

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

⑫② Date de dépôt : 21.12.07.

③⑦ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 26.06.09 Bulletin 09/26.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : *COMPAGNIE GERVAIS DANONE
Société anonyme — FR.*

⑦② Inventeur(s) : *LASCOSTE CHRISTOPHE, BRUN-
NER STEPHANE, JIMENEZ LILIANA et KLEIN
ALEXIS.*

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : REGIMBEAU.

⑤④ **PROCEDE D'ENRICHISSEMENT D'UNE EAU EN OXYGENE PAR VOIE ELECTROLYTIQUE, EAU OU BOISSON
ENRICHIE EN OXYGENE ET UTILISATIONS.**

⑤⑦ Procédé d'enrichissement d'une eau en oxygène par
voie électrolytique comprenant les étapes successives sui-
vantes:

a) électrolyse d'une eau exempte d'ions Cl⁻ et Br⁻, dans
une cellule d'électrolyse dans laquelle l'anode et la cathode
sont séparées par une membrane perméable aux charges
électriques mais imperméable aux gaz;

b) récupération de l'eau enrichie en oxygène issue du
compartiment anodique de la cellule d'électrolyse.

FR 2 925 480 - A1



L'invention se rapporte à des eaux ou boissons enrichies en oxygène (O₂), leur mode de fabrication et leurs utilisations.

5 La consommation mondiale d'eau en bouteille augmente continuellement, les consommateurs étant à la recherche d'eaux de qualité sur les plans sensoriel et qualitatif (présence de minéraux, absence de chlore et d'éléments polluants). Le marché des eaux et boissons dites fonctionnelles est en constante progression.

10 Au Japon, la consommation d'eau alcaline est en plein essor. Bien que le niveau scientifique des preuves apportées soit encore faible, l'intérêt de ces eaux serait leur goût, leur capacité à réduire l'acidification trop importante de certains fluides corporels (liquide gastrique, sang), une amélioration des propriétés culinaires de certains aliments (thé, riz, pain). Ces eaux sont le plus souvent obtenues par un procédé électrolytique, dans lequel des cellules d'électrolyse à deux compartiments (un compartiment pour l'anode, un autre
15 pour la cathode) séparés par une membrane sont utilisées. Dans ce procédé, l'eau est éventuellement filtrée sur charbon actif (pour en éliminer les particules, le chlore résiduel) sans modifier sa composition minérale, puis elle est soumise à une électrolyse qui produit deux flux (un flux basique et un flux acide) dont seul le flux basique (eau alcaline) est récupéré. De telles cellules d'électrolyse sont par exemple commercialisées par
20 NICHIDEN et JAPAN CARLIT.

Toutefois, les bienfaits allégués de ces eaux alcalines n'ont pas encore été prouvés scientifiquement.

Il peut en outre être intéressant de proposer aux consommateurs des eaux / boissons fonctionnelles ayant un bénéfice santé, en particulier visant à augmenter les performances
25 physiques, la tolérance à l'effort et les capacités de récupération des consommateurs.

Dans ce but, l'invention propose une eau enrichie en oxygène. L'oxygène est indispensable au fonctionnement des tissus et organes, qui ont besoin d'un apport d'oxygène plus important lors d'un effort physique. Dans cette eau enrichie en oxygène, l'oxygène est bio-disponible et son absorption par l'organisme a été prouvée par les
30 inventeurs. Cette eau enrichie en oxygène permet notamment d'augmenter l'apport d'oxygène aux tissus, d'améliorer les performances physiques, d'aider aux performances

physiques, de prolonger l'effort physique, d'augmenter la tolérance à l'effort, d'améliorer le taux de récupération et finalement de prévenir la déshydratation.

Des eaux alléguées enrichies en oxygène ont déjà été revendiquées dans l'art antérieur. On peut, à titre d'exemple, citer la demande américaine US 2006/0273043, et
5 toutes les demandes américaines de la même famille, déposée par Mr Bagley. Cette demande américaine revendique un procédé de fabrication d'une eau alcaline, structurée, suroxygénée ayant un potentiel d'oxydo-réduction négatif. Dans ce procédé, l'eau est préalablement conditionnée par une série de filtres (0,5 – 5 – 10 μm) puis filtrée sur charbon actif, traitée par UV (ultra-violets) et O_3 (ozone) avant de subir une étape de
10 structuration magnétique par des aimants. Ce pré-traitement ne modifie pas la composition minérale de l'eau mais peut générer des sous-produits dangereux (bromates) du fait de l'usage de l'ozone. L'eau est ensuite soumise à une électrolyse dans le but d'obtenir une eau alcaline avec un potentiel d'oxydoréduction négatif. Dans la cellule d'électrolyse utilisée, les compartiments anodique et cathodique sont séparés. Cette étape d'électrolyse
15 produit donc deux flux (un flux basique et un flux acide) dont seul le flux basique est récupéré (le flux acide – anodique- étant un sous-produit potentiellement utilisable pour des applications de nettoyage). Ensuite, de l'oxygène est injecté. L'oxygène injecté est produit par un compresseur d'air qui alimente un générateur d'oxygène. L'oxygène est ensuite épuré (charbons) et activé par magnétisation (aimants) avant injection. Ce système
20 est complété par une autre injection d'oxygène de qualité médicale.

Le procédé décrit comprend de préférence un passage de l'eau dans un système de cône (« cone system ») pour parfaire le mélange eau/oxygène puis dans un serpentin (« coil system ») qui permet également d'assurer un mélange intime de l'eau et de l'oxygène (éventuellement on ajoute également de l'ozone). De tels systèmes induisent des temps de
25 séjour trop importants pour envisager une industrialisation. De plus, l'emploi d'ozone peut générer des produits secondaires. Signalons également que ce procédé induit des pertes en eaux significatives, le contenu du compartiment anodique étant un sous-produit qui n'est pas valorisé dans le même domaine technique.

Le procédé décrit conduit donc à une eau enrichie en oxygène, l'oxygène présent dans l'eau provenant de l'étape d'injection, ayant un potentiel d'oxydo-réduction négatif (de l'ordre de -170 mV, l'électrode de référence n'étant toutefois pas indiquée)

Un autre procédé de fabrication d'une eau enrichie en oxygène a également été décrit dans la demande internationale WO 2006/023876. Plus précisément, cette demande décrit une méthode et le moyen conjugué pour préparer une eau possédant une solubilité augmentée vis à vis de l'oxygène (ESW). Son principe repose sur le traitement électromagnétique de l'eau par pulsation de courant. Lors d'essais permettant d'évaluer cette méthode, il nous apparaît qu'elle n'est pas recevable, pour les raisons suivantes :

- 10 ➤ formation de sous-produits dus à l'effet d'électrolyse: bromates BrO_3^- , chlorates ClO_3^- , chlore Cl_2 , hypochlorite ClO^- , acide hypochloreux HClO , ozone O_3 , trihalométhanes THM. Ces espèces sont très fortement réglementées du fait de leur caractère toxique ou cancérigène. Elles sont systématiquement générées par l'électrolyse de l'eau, dès lors que les espèces Cl^- et Br^- sont initialement présentes dans l'eau avant électrolyse. Or ces espèces sont omniprésentes dans les eaux potables, eaux de surface ou eau de source et des concentrations très faibles en ces espèces, de l'ordre du mg/l pour les chlorures et du $\mu\text{g/l}$ pour les bromures sont suffisantes pour générer des teneurs inacceptables en sous-produits. Ce phénomène peut être réduit selon le type d'électrode employé mais il reste présent. Ainsi, l'eau
15 générée par le procédé décrit dans cette demande n'est pas conforme à la réglementation sur les eaux embouteillées. En outre, lors de ces mêmes essais, certains de ses sous-produits chlorés ont généré des odeurs et goûts désagréables et non acceptables pour le consommateur.
- 20 ➤ Génération simultanée d' O_2 et d' H_2 . Lors du traitement électromagnétique, les réactions en jeu conduisent à l'apparition d' O_2 à l'anode et d' H_2 à la cathode. Ces deux gaz sont générés dans les proportions stoechiométriques permettant la réaction exothermique et explosive : $\text{H}_2 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$: réaction utilisée dans la pile à combustible. Pour pallier ce risque, les inventeurs procèdent à une élimination de l' H_2 par un évent située sur la cuve « 116 » et couplé à un balayage d'air
25 atmosphérique filtré. Il paraît difficile de garantir l'évacuation complète de l'hydrogène formé sans perdre une partie importante de l' O_2 formé par électrolyse.
- 30

L'industrialisation de cette technologie peut donc s'avérer dangereuse puisque les deux gaz co-existent dans le système.

- Maîtrise partielle de l'O₂ apporté par électrolyse : les conditions de pression et de température de l'eau dans la cuve « 116 » sont : 2 bars relatifs et 1°C. Pour ces valeurs, par contact prolongé entre l'eau et le balayage d'air pour évacuer l'H₂ présent dans la cuve, la concentration d'O₂ dissous dans l'eau à l'équilibre s'établira entre 35 et 40 mg/l d'O₂. Cette valeur d'équilibre est donnée par la loi de Henry et sera obtenue indépendamment du fonctionnement de l'électrolyse ! Or, d'après ce même brevet, cela correspond aux valeurs d'enrichissement obtenues après 3 à 4 heures d'électrolyse (28-35 mg/l d'O₂ dissous). Dans ces conditions, il est certain que tout l'oxygène présent dans l'eau après traitement ne provient pas de l'électrolyse mais est la somme de l'O₂ transféré par le balayage d'air dans cette cuve et de l'O₂ apporté par électrolyse.
- Stabilité de l'O₂ dissous dans l'eau : cette stabilité est annoncée supérieure à celle obtenue par injection d'O₂ sans qu'il y ait eu démonstration de cette différence. Or, à date, tous nos essais comparatifs montrent que la stabilité de l'O₂, qu'il soit obtenu par électrolyse ou injection est la même. En revanche, cette stabilité expérimentale s'avère supérieure à la stabilité théorique puisque la décroissance de la valeur d'O₂ dissous s'observe sur une durée de l'ordre de 20 jours et non pas quelques heures comme le suggère la théorie. (cf. exemple 2 sur la stabilité)
- Les essais cliniques exposés ne respectent pas les bonnes pratiques de mesure (absence de suivi des gaz expirés ; pas de dosage de l'acide lactique dans le plasma pour vérifier si les sujets ont vraiment atteint ou non leur limite physique). Leur validité scientifique, leurs résultats et leurs conclusions sont donc questionnables.
- Les électrodes décrites, anode et cathode, sont toutes deux en titane massif recouvert par un revêtement de platine. De telles électrodes ont un prix de revient trop important pour envisager une industrialisation.
- Le procédé a un rendement global faible : outre les pertes importantes en O₂ (partiellement perdu en même temps que l'H₂), le procédé prévoit des recirculations durant 3 à 4 heures avant de générer le produit fini.

L'homme du métier est donc toujours à la recherche d'un procédé économiquement viable et facilement industrialisable qui permette d'obtenir une eau enrichie en oxygène. En particulier, les inventeurs ont cherché à mettre au point un procédé d'électrolyse permettant effectivement d'enrichir une eau en oxygène (O_2) tout en s'affranchissant de la formation de sous-produits, en particulier de sous-produits halogénés.

L'invention a pour premier objet un procédé d'enrichissement d'une eau en oxygène par voie électrolytique comprenant les étapes successives suivantes :

- a) électrolyse d'une eau exempte d'ions Cl^- et Br^- , dans une cellule d'électrolyse dans laquelle l'anode et la cathode sont séparées par une membrane perméable aux charges électriques mais imperméable aux gaz ;
- b) récupération de l'eau enrichie en oxygène issue du compartiment anodique de la cellule d'électrolyse.

Par le terme « oxygène » on entend désigner l'oxygène directement assimilable par les cellules, désigné par la formule chimique O_2 .

L'expression « eau exempte d'ions Cl^- et Br^- » signifie que l'eau contient moins de 0,2 mg/l d'ions chlorure et moins de 3 $\mu g/l$ d'ions bromure.

La cathode est l'électrode siège de la réduction alors que l'anode est l'électrode siège de l'oxydation.

Le procédé selon l'invention se caractérise en ce que dans la cellule d'électrolyse, les deux électrodes, la cathode et l'anode, sont séparées par une membrane, perméable aux charges électriques (en particulier aux cations) mais pas aux gaz. L'utilisation d'une telle membrane permet d'éviter une quelconque co-existence de l'hydrogène H_2 et de l'oxygène O_2 avec le risque d'explosion associé.

Le transport d'ions au travers de la membrane est régi par trois principes :

- influence du champ électrique (imposé par le générateur de courant),
- gradient de concentration de chaque espèce de part et d'autre de la membrane,
- pression osmotique, engendrant un passage d'eau pour diluer le côté le plus concentré.

La membrane utilisée dans le procédé selon l'invention permet de confiner l'oxygène O_2 côté anode et l'hydrogène H_2 côté cathode. En même temps, elle autorise le transport d'ions d'un compartiment à l'autre, en particulier le transport des protons H^+ . La

membrane utilisée est avantageusement une membrane cationique, qui permet le passage préférentiel des cations. Elle peut laisser passer tous les cations ou être sélective des cations monovalents (seuls ces cations monovalents pourront traverser cette membrane). De préférence, la membrane utilisée sera agréée pour une utilisation alimentaire.

5 Toute membrane (organique) permettant de remplir cette fonction pourra être utilisée. A titre d'exemple, il est possible de citer la membrane de nom commercial Nafion[®] fabriquée par DuPont de Nemours. Cette membrane cationique est un copolymère tetrafluorethylène sulfonée, qui possède quant elle est humide une très bonne capacité de transport des protons (H^+) tout en ayant une bonne résistance mécanique et thermique. Elle
10 présente par ailleurs une très bonne résistance à l'oxydation et à certains produits chimiques (chlore, soude). Peuvent également être citées les membranes de nom commercial Neosepta[®] fabriquées par Tokuyama, en particulier les membranes de nom commercial Neosepta[®] de gamme CMX telles que CMX-Sb et CMX-S. Ces membranes de nom commercial Neosepta[®] gamme CMX sont des membranes cationiques,
15 symétriques, non orientées, à base de co-polymère styrène – divinylbenzène. La membrane de nom commercial Neosepta[®] gamme CMX-Sb est une membrane dense, standard, cationique non sélective, alimentaire, beaucoup moins chère que la membrane Nafion. La membrane de nom commercial Neosepta[®] CMX-S est une membrane sélective des cations monovalents, agréée alimentaire en Europe, l'agrément alimentaire aux Etats-Unis étant en
20 cours.

La solubilité des gaz dans l'eau peut être déterminée selon la loi de Henry. D'après cette loi, à température constante et à saturation, la quantité de gaz dissous dans un liquide est proportionnelle à la pression qu'exerce ce gaz sur le liquide. Par exemple, dans un litre d'eau, 49,1 ml d'O₂ peuvent être dissous à 0°C alors que seulement 20,9 ml d'O₂ peuvent
25 être dissous à 50°C, pour une pression partielle en oxygène d'1 bar.

Pour cette raison, il est préférable que l'eau subissant l'étape d'électrolyse soit à une température permettant d'assurer le maintien de l'oxygène O₂ formé dans l'eau. Selon une variante avantageuse de l'invention, l'eau exempte d'ions Cl⁻ et Br⁻ est refroidie entre 1 et 10°C avant d'être dirigée sous pression (avantageusement 6.10^5 Pa) dans la cellule
30 d'électrolyse. Lors de l'étape d'électrolyse, la température de l'eau est avantageusement maintenue entre 1 et 10°C.

Selon une variante avantageuse du procédé selon l'invention, le flux entrant d'eau est partagé en 2 branches de débit identique qui traversent chacune l'un des 2 compartiments anodique ou cathodique. Ces 2 compartiments sont séparés par une membrane organique perméable aux charges électriques mais imperméable aux gaz, telle
5 que décrite précédemment. Selon le type de cellule, il peut être judicieux d'effectuer une recirculation sur chacun des compartiments. L'électrolyse génère un enrichissement en oxygène du flux anodique et une production d'hydrogène dans le flux cathodique. L'hydrogène formé est éliminé au fur et à mesure de sa production par un module membranaire fibres creuses fonctionnant sous vide partiel avec avantageusement un
10 balayage d'azote. Ce module membranaire fibres creuses emploie des membranes perméables aux gaz mais imperméables à l'eau. L'utilisation de ce module permet l'élimination de l'hydrogène dissous. En sortie du bloc d'électrolyse, selon une variante avantageuse, les 2 branches se rejoignent pour constituer un mélange à pH neutre, enrichi en O₂ et exempt d'H₂ (auto-neutralisation).

15 Une recirculation rapide de chaque côté de la membrane conduit à une optimisation du rendement de production de gaz / surface d'électrode mise en œuvre. Selon une variante avantageuse du procédé, sur chaque branche, on retrouve une boucle de recirculation dont le débit est 2 à 20 fois le débit nominal de l'installation qui permet une meilleure hydraulique dans la cellule d'électrolyse: mélange amélioré de l'eau et du gaz (flux
20 turbulent), entraînement de la couche limite de gaz qui peut se former à la surface de l'électrode. L'eau de recirculation est re-mélangée en entrée de la cellule d'électrolyse à de l'eau n'ayant pas encore subi d'étape d'électrolyse. Cette circulation reste toutefois optionnelle. Il est plus avantageux de se placer délibérément dans des conditions de pression et température permettant d'éviter la formation de poches de gaz. La recirculation
25 devient alors inutile.

Durant cette étape d'électrolyse, la pression est maintenue à $6 \cdot 10^5$ Pa. La perte de charge constatée est avantageusement inférieure à $1 \cdot 10^5$ Pa.

Le débit total d'eau en entrée et en sortie de la cellule d'électrolyse varie avantageusement de 10 l/h à 50 l/h. Le débit de recirculation pourra être de 120 l/h.

30 Dans le procédé selon l'invention, il n'est pas nécessaire que les deux électrodes (anode et cathode) soient toutes deux des électrodes en titane massif recouvert par un

revêtement de platine. Selon une variante avantageuse de l'invention, seule l'anode sera une électrode en titane massif recouvert par un revêtement de platine. La cathode pourra simplement être une cathode en inox, ce qui contribue à diminuer très significativement le cout global du procédé (l'économie générée est d'environ 20% du coût complet de l'installation). Par ailleurs, une électrode en inox présente l'avantage d'être alimentaire (contrairement à d'autres électrodes).

Les pressions d'eau à l'entrée de l'anode et de la cathode sont contrôlées ; elles doivent être équilibrées pour éviter la déformation de la membrane imperméable aux gaz dans la cellule. L'eau circule entre les 2 électrodes, de part et d'autre de la membrane. Les électrodes sont soumises à un courant électrique, généré par une alimentation de courant continu, d'intensité imposée (10 à 35 A). La tension résultante est fonction de la conductivité de l'eau (température, nature et quantité de sels minéraux : mobilité, charges), de la distance entre les deux électrodes et du type de membrane utilisée. Dans les essais considérés, la tension varie entre 8 et 45V.

En utilisant une eau exempte d'ions Cl^- et Br^- , on s'assure que les espèces halogénées (en particulier chlorées et bromées) et autres sous-produits de l'électrolyse ne sont pas générés. Ainsi, le procédé selon l'invention permet l'obtention d'une eau enrichie en oxygène exempte des espèces non désirées (mais classiquement générées par électrolyse d'une eau - eaux potables, eaux de surface, eaux de source - non préalablement traitée), en particulier les bromates BrO_3^- , les chlorates ClO_3^- , le chlore Cl_2 , l'hypochlorite ClO^- , l'acide hypochloreux HClO , l'ozone O_3 , et les trihalométhanes. Parmi les espèces halogénées et bien que beaucoup moins fréquent dans les eaux, on veillera également à éviter la présence d'ions iodure I^- afin d'empêcher toute génération de sous-produits tels l'iode I_2 ou les iodates IO_3^- .

Toutefois, pour permettre la réalisation de l'électrolyse, cette eau exempte en ions Cl^- et Br^- doit contenir des sels dissous (ce sont ces sels dissous qui sont porteurs de charges électriques et permettent ainsi l'électrolyse).

L'eau exempte d'ions Cl^- et Br^- est avantageusement une eau qui a subi une étape de déminéralisation visant à éliminer ces ions Cl^- et Br^- , puis une étape de reminéralisation (ajout de sels purs). Les éléments tout particulièrement visés dans cette étape de déminéralisation sont les chlorures et les bromures à partir desquels sont générés les

oxydants chlore et brome lors de l'oxydation à l'anode. L'eau de base peut-être une eau de source, une eau souterraine ou une eau de surface y compris l'eau d'adduction publique.

Préalablement à l'étape de déminéralisation, l'eau peut être soumise à un ou plusieurs traitements d'adoucissement par passage sur résine échangeuse d'ions pour
5 éliminer la dureté de l'eau (calcium et magnésium) et de déchloration (si nécessaire) par passage sur cartouche de charbon actif.

Selon une variante avantageuse de l'invention, on utilisera à l'étape (a) le perméat reminéralisé récupéré après (a1) osmose inverse d'une eau puis (a2) reminéralisation. Ainsi, le procédé selon l'invention comprend avantageusement une étape préalable (a1) de
10 traitement d'une eau par osmose inverse de façon à récupérer un perméat exempt d'ions Cl^- et Br^- ; puis une étape préalable (a2), subséquente à l'étape (a1), de reminéralisation du perméat obtenu suite à l'étape (a1), l'étape a) étant alors réalisée sur ce perméat reminéralisé.

L'osmose inverse est un procédé de séparation en phase liquide par perméation à
15 travers des membranes semi-sélectives sous l'effet d'un gradient de pression. L'écoulement s'effectue en continu tangentielllement à la membrane. Une partie de l'eau à traiter se divise au niveau de la membrane en deux parties de concentrations différentes:

- une partie passe à travers la membrane (perméat ; eau exempte d'ions Cl^- et Br^-)
- une partie qui ne passe pas à travers la membrane (rétentat) et qui contient les
20 molécules ou particules retenues par la membrane, à savoir pratiquement tous les minéraux, en particulier les ions Cl^- et Br^- .

Le module d'osmose inverse sera dimensionné selon les règles de l'art en fonction des caractéristiques de l'eau brute. L'osmose inverse pourra être précédée d'un pré-traitement (filtrations, stérilisation, décontamination) permettant d'en optimiser la
25 conduite.

Le perméat obtenu aura avantageusement une conductivité inférieure à $10 \mu\text{S/cm}$. Cette eau déminéralisée est donc extrêmement pure. Les teneurs maximales en chlorures et bromures seront respectivement de $0,2 \text{ mg/l}$ et $3 \mu\text{g/l}$.

Cette phase de déminéralisation peut aussi être réalisée selon une technique plus
30 ancienne que l'osmose inverse. Parmi ces techniques, on notera la distillation ou le passage

de l'eau sur résines échangeuses d'ions. L'électrodialyse est également une technique recevable pour réaliser cette déminéralisation.

L'étape de reminéralisation (du perméat) permet de conduire la réaction d'électrolyse. Il s'agit de rajouter des sels minéraux, de qualité alimentaire, exempts de chlorure et bromure.

Selon une variante avantageuse de l'invention, la conductivité cible varie de 200 à 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ fonction de la minéralisation ciblée pour le produit fini. Comme exemples de sels utilisables, on peut notamment citer les sels suivants : NaHCO_3 , Na_2SO_4 , Na_3PO_4 , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , KHCO_3 , K_3PO_4 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , K_2SO_4 , MgSO_4 , CaSO_4 , $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaHPO_4 , $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$. Il est primordial de ne pas mélanger des sels contenant des bicarbonates avec des sels de calcium ou de magnésium afin d'éviter la précipitation de carbonates de calcium ou de magnésium dans le compartiment cathodique du fait de l'augmentation de pH. En particulier, on ajoute les sels alimentaires Na_2SO_4 et Na_3PO_4 , 12 H_2O . Si nécessaire, le pH de l'eau peut être modifié par l'emploi de composés bien connus de l'homme du métier. En particulier, on peut ajuster le pH de l'eau à pH 7.

La séparation des deux électrodes par une membrane génère trois modifications importantes de l'eau traitée :

- changement de pH de part et d'autre de la membrane (acidification coté anodique et alcalinisation coté cathodique) ;
- migration d'ions au travers de cette membrane. La composition ionique peut donc être modifiée coté anodique et cathodique ;
- pertes en eau puisque le coté cathodique, à pH élevé et chargé en H_2 peut difficilement être valorisé.

Dans le procédé selon l'invention, il est donc avantageux de réintroduire dans l'eau oxygénée obtenue à l'étape (b) l'eau issue du compartiment cathodique de la cellule d'électrolyse, exempte d'hydrogène. Ainsi, le procédé selon l'invention comprend avantageusement une étape supplémentaire (c) de réinjection de l'eau issue du compartiment cathodique de la cellule d'électrolyse, exempte d'hydrogène, dans l'eau enrichie en oxygène obtenue suite à l'étape (b). L'étape supplémentaire (c) permet de réaliser, suite à l'étape d'électrolyse, une auto-neutralisation. Dans la branche cathodique, après électrolyse, l'hydrogène formé est éliminé au fur et à mesure de sa production, par

exemple par un module membranaire fibres creuses maintenu sous vide partiel avec avantageusement un balayage d'azote. En sortie du bloc d'électrolyse, les 2 branches (anodique et cathodique exempt d'hydrogène) se rejoignent pour constituer un mélange à pH neutre, enrichi en O_2 et exempt d' H_2 . Cette auto-neutralisation permet d'annuler les pertes en eau et les pertes ioniques dues aux migrations d'ions de part et d'autre de la membrane, la composition minérale de l'eau obtenue est donc parfaitement contrôlée. Cette étape supplémentaire (c) permet également d'équilibrer la pression de part et d'autre de la membrane séparant les 2 compartiments anodique et cathodique. Cet auto équilibrage des pressions augmente la durée de vie de la membrane en supprimant les déformations liées au déséquilibre des pressions de part et d'autre.

Dans le cas d'une boisson, acide par nature ($pH < 3$), l'acidité à l'anode n'est pas un problème. Néanmoins, l'auto-neutralisation offre une grande simplicité de procédé puisque la totalité du flux d'eau entrant dans le module sera valorisé.

Le procédé selon l'invention peut en outre comprendre une étape préalable (a3) le cas échéant subséquente à l'étape (a2), de dégazage de l'eau avant son enrichissement par électrolyse. Ainsi, l'oxygène dissous dans l'eau du procédé sera exclusivement de l'oxygène obtenu par électrolyse.

Le procédé peut comprendre une dernière étape consistant à compléter le cas échéant la formulation de l'eau enrichie en oxygène en y rajoutant les ingrédients ne pouvant pas subir la réaction d'électrolyse sous peine de subir des dégradations irréversibles. Il pourra s'agir de sels minéraux, y compris les formes chlorures ou de sels organiques ainsi que des ingrédients traditionnels d'une boisson : sucres, édulcorants, arômes, acides, conservateurs, vitamines, extraits végétaux, jus, protéines, fibres.

Ainsi, le procédé comprend avantageusement une étape subséquente (d) de formulation finale, comprenant l'ajout à l'eau enrichie en oxygène par électrolyse de minéraux et autres ingrédients traditionnels d'une boisson. Cette eau pourra également être complétée par des vitamines, des sels minéraux ou organiques, des protéines, des extraits végétaux, et tout autre composé naturel ou de synthèse compatibles avec l' O_2 . On obtient alors une boisson. Lors de cette étape (d), on pourra réinjecter le rétentat de l'osmose inverse obtenu à l'étape (a1) dans l'eau enrichie en oxygène obtenue à l'étape (b) ou (c). Cette étape permet finalement de conserver le profil minéral de l'eau initiale. Cela suppose

que l'osmoseur soit étudié pour permettre cette valorisation du rétentat et qu'aucun produit chimique n'ait été injecté dans l'eau (type séquestrant) pour en faciliter la filtration par osmose inverse.

L'eau ou la boisson ainsi obtenue est ensuite avantageusement conditionnée. Avant
 5 son conditionnement, l'eau ou la boisson pourra être soumise à une étape de stérilisation (par Ultra-violets –UV- par exemple). Une fois la formulation finale obtenue, l'eau ou boisson enrichie en oxygène formulée sera avantageusement stockée sous pression et maintenue froide (5 à 10°C) pour minimiser les pertes d'oxygène lors du soutirage de la boisson. La présence d'oxygène confère au produit fini les mêmes caractéristiques qu'un
 10 produit gazeux. Son soutirage (mise en bouteille) implique avantageusement les mêmes contraintes: soutireuse iso-barométrique et packaging spécifique : bouteille Polyéthylène Téréphtalate PET avec propriétés barrière aux gaz (ex : PET multicouche ou PET avec revêtement spécifique), emballage verre ou de type canette aluminium

Les figures 1 et 2 représentent des variantes préférées du procédé selon l'invention.
 15 L'eau à traiter A (eau de ville, eau de surface, eau de source, eau minérale) est soumise à un traitement de déminéralisation par osmose inverse (1). Préalablement, elle peut subir un prétraitement (0), tel que des filtrations et/ou stérilisations et/ou décontamination. En sortie du module d'osmose inverse, le perméat A1, eau exempte d'ions chlorure et bromure, est récupéré puis reminéralisé (2) par ajout de sels (NaHCO_3 , Na_2SO_4 , Na_3PO_4 , Na_2HPO_4 ,
 20 NaH_2PO_4 , KHCO_3 , K_3PO_4 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , K_2SO_4 , MgSO_4 , CaSO_4 , $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaHPO_4 , $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$). L'eau reminéralisée A2, toujours exempte d'ions chlorure et bromure, est transférée vers la cellule d'électrolyse (3). Préalablement, elle peut être soumise à une étape d'élimination des gaz (en particulier de l'oxygène). Avant d'entrer
 25 dans la cellule d'électrolyse, l'eau A2 ou A'2 est séparée en deux branches, une branche est orientée vers le compartiment anodique (relié au pôle + du générateur) (3b) alors que l'autre branche est orientée vers le compartiment cathodique (relié au pôle - du générateur) (3a). L'hydrogène dissous contenu dans la branche C issue du compartiment cathodique est éliminé. Les branches anodique (A3) et cathodique déshydrogéné (C') sont rassemblées (auto-neutralisation, donne A4). Il est possible de prévoir au niveau de la cellule
 30 d'électrolyse des boucles de recirculation (réinjection d'une partie des branches anodique A3 et cathodique – déshydrogéné- C' en amont de la cellule d'électrolyse mais après

séparation en 2 branches). L'eau oxygénée A4 subit ensuite une étape de formulation de l'eau (4), c'est-à-dire ajout de tous les ingrédients nécessaires à la fabrication d'une eau ou d'une boisson et en particulier des ingrédients qui ne peuvent pas subir l'étape d'électrolyse. Selon une variante avantageuse, le rétentat B issu de l'étape d'osmose inverse est réintroduit dans l'eau A4 lors de cette étape 4 de formulation. L'eau ou la boisson A5 est ensuite conditionnée (5) en particulier par soutirage.

On remarque que le procédé peut être réalisé en ligne et ne nécessite pas de cuve de stockage.

Tous les dispositifs et éléments utilisés, en particulier les membranes et les électrodes, sont habilités à être utilisés dans le domaine alimentaire.

Le procédé selon l'invention permet d'obtenir une eau particulièrement enrichie en oxygène (l'oxygène O_2 dissous dans l'eau étant le résultat direct du procédé d'électrolyse). Le procédé selon l'invention peut donc avantageusement être caractérisé en ce que l'eau obtenue à l'étape (b), (c) et/ou (d) contient au moins 100 mg/l d'oxygène dissous, à une température comprise entre 5 et 10°C et à une pression de 6.10^5 Pa. Avantageusement, suite à l'étape (c) d'auto-neutralisation, l'eau obtenue contient 150 mg/l d' O_2 dissous, à une température comprise entre 5 et 10°C et à une pression de 6.10^5 Pa.

Le procédé permet d'obtenir en ligne, et non plus en batch, sans perte d'eau, une eau enrichie en oxygène.

Une fois la formulation finale obtenue, l'eau ou boisson enrichie en oxygène formulée sera avantageusement stockée sous pression et maintenue froide (5 à 10°C) pour minimiser les pertes d'oxygène lors du soutirage de la boisson.

Les inventeurs ont constaté que, sur une période de 3 heures après ouverture de la bouteille (ou conditionnement) enrichie en oxygène, la teneur en O_2 dissous dans l'eau ou la boisson reste supérieure ou égale à 90% de la teneur initiale avant ouverture. Cette excellente stabilité s'observe à la fois pour une eau ou boisson enrichie en oxygène par injection d' O_2 ou par le procédé selon l'invention (électrolyse). Ceci met en évidence une similitude de comportement de l'oxygène entre les deux procédés d'enrichissement (injection ou électrolyse).

Dans le cadre d'une consommation normale de ces eaux ou boissons, soit dans les 3 heures après ouverture de la bouteille, la perte d'oxygène à considérer reste inférieure à

10% de la valeur initiale avant ouverture. La désorption complète de l'oxygène sursaturant nécessite plusieurs jours, 23 jours dans le cadre de l'exemple 2.

L'eau ou la boisson selon l'invention contient avantageusement, avant ouverture ou à l'ouverture de la bouteille ou du conditionnement, au moins 100 mg/l d'oxygène dissous.

- 5 Avantageusement, l'eau selon l'invention contient dans son emballage commercial au moins 100 mg/l d'O₂ dissous, voire au moins 110 mg/l d'O₂ dissous, à une pression interne variant de $1,5 \cdot 10^5$ à $2,5 \cdot 10^5$ Pa ($1,8 \cdot 10^5$ Pa) et à température ambiante.

- 10 Le potentiel d'oxydo-réduction n'est pas modifié dans le cadre du procédé selon l'invention d'électrolyse dans la mesure où les deux compartiments anodique et cathodique sont re-mélangés après élimination de l'hydrogène en sortie de cellule d'électrolyse. Cela signifie que le potentiel d'oxydo-réduction n'est pas très différent entre un procédé d'injection d'O₂ ou le procédé d'électrolyse développé par les inventeurs.

- 15 L'invention a également pour objet une eau ou boisson enrichie en oxygène susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'invention, pour laquelle l'oxygène dissous est disponible et utilisable par la mitochondrie cellulaire. L'oxygène dissous, susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'invention, permet d'augmenter les vitesses de respiration mitochondriale même lorsque la teneur en oxygène a atteint la concentration d'équilibre (pO₂ atmosphérique soit 10 mg/l). En particulier, lorsque la concentration d'oxygène est limitante, l'eau ou la boisson selon l'invention permet de maintenir une
20 vitesse de consommation d'oxygène supérieure et donc une production d'énergie sous forme d'ATP plus élevée que celles observées avec une autre eau (eau normale ou eau enrichie en oxygène par injection) ayant une même concentration en O₂ (même à 10 µmol/l= 0,32 mg/l).

- 25 Dans une étude *in vitro* de la disponibilité de l'eau oxygénée dans les mitochondries (cf. exemple 3), les inventeurs ont en effet montré que les mitochondries musculaires sont capables d'utiliser l'ensemble de l'oxygène présent dans l'eau enrichie.

- 30 L'eau ou la boisson enrichie en oxygène obtenue par le procédé selon l'invention, est parfaitement disponible pour la mitochondrie. De façon intéressante, les inventeurs ont constaté que lorsque l'oxygène de la solution devient le facteur limitant le fonctionnement de la mitochondrie, les vitesses de respiration mitochondriale, mesurées lorsque seul l'accepteur final de l'oxygène fonctionne (complexe IV), sont supérieures avec l'eau selon

l'invention, c'est à dire l'eau enrichie en oxygène par électrolyse, par rapport à l'eau contrôle (eau normale ou eau enrichie en oxygène par injection). Ce résultat suggère que l'oxygène dissous sous cette forme est plus disponible pour la mitochondrie, ce qui lui permet de maintenir une vitesse de consommation d'oxygène supérieure et en conséquence

5 une production d'énergie supérieure lorsque la concentration d'oxygène est limitante.

L'eau ou la boisson enrichie en oxygène susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'invention est également caractérisée en ce qu'elle permet d'augmenter la production d'énergie sous forme d'ATP par la mitochondrie dans des conditions d'exercice intense ou lorsque l'apport d'O₂ devient limitant comme c'est le cas chez les patients

10 présentant des pathologies artéritiques.

L'eau ou la boisson enrichie en oxygène susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'invention est également caractérisée en ce qu'elle permet d'augmenter l'apport d'O₂ aux tissus et aux organes. Elle permet aussi d'améliorer le pouvoir hydratant de l'eau en augmentant son absorption et son passage dans le compartiment intravasculaire.

15 Ainsi, l'invention a également pour objet une eau ou boisson enrichie en oxygène susceptible d'être obtenue par le procédé caractérisée en ce qu'elle permet d'augmenter l'absorption et/ou la rétention de l'eau par l'organisme et permet de faciliter/améliorer l'hydratation et/ou de prévenir la déshydratation.

Dans une étude *in vivo* chez le porc (cf. exemple 4), les inventeurs ont en effet

20 montré que l'eau enrichie en oxygène, lorsqu'elle est obtenue par le procédé selon l'invention, permet d'augmenter la différence artério-veineuse en O₂.

La différence artério-veineuse en O₂ correspond à la différence entre les concentrations du sang artériel et veineux en O₂, elle représente la quantité d'O₂ consommé par les tissus, elle est directement fonction de l'intensité du métabolisme oxydatif. Si un

25 muscle consomme une grande quantité d'O₂, la différence artério-veineuse augmente au niveau de ce muscle.

Par ailleurs, dans cette étude, les inventeurs ont également montré que l'eau enrichie en oxygène, par le procédé selon l'invention, induit une augmentation de la pression partielle tissulaire en oxygène mesurée au niveau de la peau. L'eau enrichie en

30 oxygène, par le procédé selon l'invention, induit donc une augmentation de l'apport d'O₂ à la peau.

La consommation d'O₂ (volume d'O₂ consommé en L.min⁻¹kg⁻¹) augmente avec la puissance d'un exercice physique et varie avec l'âge du sujet, son sexe, ses conditions physiologiques. Lors d'un effort physique, les organes sollicités consomment plus d'O₂ qu'au repos. Après un effort, l'organisme continue de consommer plus d'O₂ qu'au repos jusqu'à atteindre l'état d'équilibre, mécanisme appelé la « dette d'O₂ ».

Cette eau ou boisson selon l'invention enrichie en oxygène permet donc d'aider à et/ou d'améliorer les performances physiques chez l'homme (ou l'animal).

L'invention a également pour objet une boisson énergisante contenant une eau ou boisson enrichie en oxygène selon l'invention.

Cette boisson pourra comprendre, outre l'eau selon l'invention, tous les éléments classiquement introduits dans une boisson tels que du sucre, des édulcorants, des arômes, des acides, des conservateurs. Cette boisson pourra également être complétée par des vitamines, des sels minéraux, des sels organiques, des jus, des protéines, des extraits végétaux, des fibres et tout autre composé naturel ou de synthèse compatibles avec l'O₂.

Cette boisson ou l'eau selon l'invention peut en particulier être utilisée en tant qu'apport énergétique, apport dynamisant et/ou aide à la récupération et à la remise en forme, pour améliorer les performances physiques, pour améliorer la tolérance à l'effort et/ou prolonger l'effort physique. Cette boisson ou eau est donc particulièrement adaptée pour les athlètes, les sportifs occasionnels ou réguliers. Elle pourra être utilisée dans un cadre de sport en salle (fitness en particulier) ou dans tout sport d'endurance pour améliorer les performances et/ou prolonger l'effort physique et/ou améliorer la tolérance à l'effort et/ou aider à la récupération.

Légende des figures:

Figure 1 : schéma représentatif d'une variante préférée du procédé selon l'invention.

Figure 2 : schéma représentatif d'une variante préférée plus complète du procédé selon l'invention.

Figure 3 : schéma de la cellule d'électrolyse.

Figure 4 : désorption de l'oxygène, en fonction du temps, après ouverture d'une bouteille contenant une eau enrichie en oxygène par le procédé selon l'invention d'électrolyse de l'eau.

Figure 5 : désorption de l'oxygène, en fonction du temps, après ouverture d'une bouteille contenant une eau enrichie en oxygène par injection d'oxygène pur.

Figure 6 A: respiration mitochondriale maximale (Volume V en $\mu\text{mol O}_2/\text{min/g}$ en poids sec) en fonction de la concentration d'oxygène (exprimée en $\mu\text{M d'O}_2$) en activant l'ensemble de la chaîne respiratoire (n=6).

Figure 6 B: respiration mitochondriale maximale (Volume V en $\mu\text{mol O}_2/\text{min/g}$ en poids sec) en fonction de la concentration d'oxygène (exprimée en $\mu\text{M d'O}_2$) en activant uniquement le complexe IV de la chaîne respiratoire mitochondriale (n=6).

Figure 7 : évolution de la différence artério-veineuse en oxygène (DavO_2) dans les trois groupes référence, électrolyse, injection.

Figure 8 : évolution de la mesure de la pression partielle trans-cutanée en oxygène (TC PO_2) dans les trois groupes référence, électrolyse, injection.

Figure 9A : variations relatives du volume plasmatique dans les trois groupes (électrolyse, référence et injection) en étudiant les modifications relatives du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite (en pourcentage).

Figure 9B : variations relatives du volume plasmatique dans les trois groupes (électrolyse, référence et injection) à partir des osmolarités (en mmol.kg^{-1}).

Les exemples qui suivent illustrent l'invention et ne sont pas limitatifs.

20 Exemple 1 : Procédé de préparation d'une eau enrichie en oxygène

(a1) Déminéralisation

L'étape de déminéralisation est constituée de plusieurs opérations unitaires regroupées dans une unité.

- Refroidissement de l'eau potable du réseau d'adduction publique par un échangeur à plaques alimenté par eau glacée
Delta de température -10°C environ
- Pompe de surpression
- Poste d'adoucissement composé de 2 adoucisseurs et de 2 bacs à sel
- un poste de filtration :
1 pré-filtre $100\mu\text{m}$
3 filtres à Charbon Actif pour la déchloration et l'abattement de la matière

organique en parallèle

3 filtres 1µm pour la filtration finale

- 1 pompe multicellulaire en inox 316L en entrée d'osmoseur
- 1 poste d'osmose inverse :

5 5 corps de pression équipés de membranes de 4 pouces (telle que les membranes commercialisées sous la dénomination BWLE 4040)

L'osmoseur est équipée de vannes pointeaux pour régler les débits des effluents de rejet et de recirculation, de manomètres en entrée/sortie et d'un conductivimètre sur le perméat.

- 10 • 1 poste de stérilisation (UVc, 254nm, dose UVc de 60mj/cm² pour un débit de 2,5m³/h)

L'eau déminéralisée ainsi obtenue est ensuite dirigée vers une cuve de stockage de 3,5 m³ régulée en température au travers d'une boucle de circulation

(a2) Reminéralisation

15 Différents sels, seuls ou en mélange, ont été testés. Les sels alimentaires choisis en vue de reminéraliser cette eau purifiée sont :

- Di Sodium Sulfate ou Na₂SO₄ ; code européen E514 ;
- Tri Sodium phosphate ou Na₃PO₄, 12 H₂O ; code européen E339 ;

Après ajout des sels, le pH de l'eau reminéralisée est de 10,6 -10,7. La neutralisation à pH

20 7 se fait par ajout d'acide ortho-phosphorique de grade alimentaire (85% extrapur ; code européen E338).

Les résultats des analyses effectuées sur l'eau à différents stades du procédé sont donnés dans le tableau 1 suivant :

Type de bouteille : verre

25 Volume : 500 mL

échantillon	pH	Cond.	Ca *	Mg *	Na *	K *	HCO ₃ *	BrO ₃ **	ClO ₃ **	SO ₄ *	PO ₄ *	NO ₃ *	Br **	Cl *
Eau	7,64	504	107	3,9	14,5	2,77	244	4	250	37	0,8	31	25	28
Perméat ¹	6,02	8	<0,1	<0,1	0,9	<0,1	4,9	<1	<20	0	0	0,8	x	0
Perméat+ sels	10,7	882	1,1	<0,1	209	<0,1	165 ²	<1	<20	257	108	0,8	x	0
Perméat+ sels après neutralisation	7,19	808	<0,1	<0,1	209	<0,1	97 ²	<1	<20	255	211	0,8	x	0

Tableau 1 – Résultats des analyses effectuées sur l'eau à différents stades du procédé

¹ perméat de l'osmose inverseCond. = conductivité en $\mu\text{S}/\text{cm}$ * concentration exprimée en mg/l ; ** concentration exprimée en $\mu\text{g}/\text{l}$

5 x = non détectable

² artefact analytique**(a) Electrolyse*** matériel

- Cuve tampon 3,5 m³
- 10 • Pompe centrifuge
- Refroidisseur à eau
- Echangeur à plaques
- Contacteurs à membranes fibres creuses
- Module d'électrodialyse équipé d'une anode en Titane revêtu de Platine, d'une
- 15 cathode en Inox 304, et d'une membrane perméable aux charges électriques, aux
- cations et imperméable aux gaz type CMX-Sb (gamme Neosepta, fabricant
- Tokuyama)
- Analyseur multi-paramètres d'oxygène dissous + sonde (O₂).
- Analyseur de gaz dissous multi-paramètres : O₂, O₃, H₂ + sondes spécifiques (O₃)
- 20 et (H₂)
- Stérilisateur UVc 254nm (débit nominal : 0,75m³/h)
- Système de soutirage iso-barométrique composé d'un tank de stockage
- pressurisable, régulé en température au travers d'une double enveloppe et d'une
- soutireuse iso-barométrique.
- 25 • Filtre gaz 0,2 μm

* Mode opératoire

L'eau reminéralisée est dirigée vers la pompe qui assure une pression d'alimentation de $6 \cdot 10^5$ Pa en entrée du bloc d'électrolyse. Pour limiter l'échauffement dû à cette pompe, l'eau est ensuite refroidie au travers d'un échangeur à plaques à contre courant du circuit

30 du refroidisseur, ce qui permet de maintenir la température de l'eau entre 4 et 8°C.

Une vanne à pointeau permet un réglage fin de la pression d'alimentation du bloc d'électrodialyse à $6 \cdot 10^5$ Pa environ.

On élimine ensuite les gaz dissous résiduels au moyen de 2 contacteurs à membrane en série, en faisant le vide partiel ($0,045 \cdot 10^5$ Pa) avec une trompe à eau. Un point de
5 prélèvement, relié à un analyseur équipé d'une sonde à oxygène permet de mesurer l'oxygène résiduel. La quantité d'oxygène dissous résiduel est inférieure à 1mg/l pour un débit d'eau maximum de 50 l/h. Au-delà de ce débit d'eau, les performances de désaération des mini-modules ne permettent pas d'atteindre des valeurs d'oxygène dissous aussi basses.

10 Le circuit d'eau se divise alors en 2 branches pour alimenter la cathode et l'anode de la cellule d'électrolyse. Le débit d'eau entrée/sortie varie de 10 à 50 l/h au total des deux branches (anode+cathode). Les pressions d'eau à l'entrée de l'anode et de la cathode sont contrôlées ; elles doivent être équilibrées pour éviter la déformation de la membrane imperméable aux gaz dans la cellule d'électrolyse.

15 L'eau circule entre les 2 électrodes, de part et d'autre de la membrane. Les électrodes sont soumises à un courant électrique, généré par une alimentation de courant continu, d'intensité imposée (10A). Dans les essais considérés, la tension varie entre 8 et 45V.

A la sortie de la cathode, un contacteur à membranes fibres creuses permet d'éliminer l'hydrogène produit par la réaction d'électrolyse. Ce contacteur travaille sous vide partiel
20 de $-0,8 \cdot 10^5$ Pa et léger balayage d'azote. Il permet une réduction d'un facteur 10 de l'hydrogène dissous (de 2,5 mg/l à 0,2 mg/l). L'hydrogène récupéré sera évacué et traité pour éviter tout risque d'explosion.

Sur chaque branche, on retrouve une boucle de recirculation qui permet une meilleure hydraulique dans la cellule d'électrolyse : mélange amélioré de l'eau et du gaz (flux
25 turbulent), entraînement de la couche limite de gaz qui peut se former à la surface de l'anode. Une pompe à engrenages permet cette recirculation qui est contrôlée par un débitmètre. Le débit de recirculation est d'environ 120l/h. Cette recirculation reste optionnelle. Il est plus avantageux de se placer délibérément dans des conditions de pression et température permettant d'éviter la formation de poches de gaz. La recirculation
30 devient alors inutile. L'eau est re-mélangée à de l'eau reminéralisée n'ayant pas encore subie l'étape d'électrolyse en entrée de cellule. Compte tenu de la pression en entrée du

système, les boucles de recirculation sont équipées de clapets anti-retour. Outre l'intérêt hydraulique, la boucle permet aussi un enrichissement plus élevé en oxygène.

Le débit sortant (hors recirculation) est mesuré à l'aide de débitmètres et peut être ajusté à l'aide de vannes pointeaux. La pression dans chaque branche est aussi mesurée à l'aide de manomètres à aiguilles, pour apprécier la perte de charge dans la cellule. La pression dans

5 chaque branche est de 6.10^5 Pa ; la perte de charge est inférieure à 1.10^5 Pa.

Les 2 branches anodique et cathodique sont ensuite re-mélangées ce qui offre 4 avantages :

- auto-neutralisation entre les ions H^+ et OH^- produits respectivement à l'anode et à la cathode. Le pH résultant est donc neutre;
- 10 - suppression des possibles variations de la composition minérale liées aux transferts d'ions de part et d'autre de la membrane;
- récupération de la totalité de l'eau d'où un excellent rendement
- auto-équilibrage des pressions de part et d'autre de la membrane ce qui supprime le phénomène de fatigue de la membrane et accroît sa durée de vie

15 En effet, de chaque côté de la membrane, la réaction d'oxydoréduction est la suivante

- Oxydation à l'anode (reliée au pôle + du générateur) : $2H_2O \rightarrow O_2 + 4 H^+ + 4 e^-$
- Réduction à la cathode (reliée au pôle - du générateur) : $4H_2O + 4 e^- \rightarrow 2 H_2 + 4 OH^-$

ce qui globalement correspond à la réaction $2H_2O \rightarrow 2H_2 + O_2$

Les mesures de pH et de conductivité de chaque côté de la membrane donnent les résultats

20 suivants :

Anode pH = 2,4 X = 1300 $\mu S/cm$

Cathode pH = 11,6 X = 1400 $\mu S/cm$

Les valeurs élevées de conductivité sont dues à la présence des ions H^+ ou OH^- . Cette conductivité diminue suite à l'étape d'auto-neutralisation.

25 Les mesures sur l'eau auto neutralisée sont les suivantes

pH = 7,1-7,2 X = 750-770 $\mu S/cm$

O_2 dissous = 140-160 mg/l

Une telle valeur en oxygène permet d'assurer une teneur en oxygène dissous dans le contenant final (la bouteille par exemple) d'au moins 100 mg/l.

L'eau est ensuite stérilisée par UV, puis stockée dans un tank pressurisé sous une pression d'oxygène suffisante ($2,2 \cdot 10^5$ Pa d'O₂) pour limiter ou empêcher tout dégazage / désorption.

NB : Le remplissage de la cuve de stockage se fait sous pression. Cette cuve de stockage
5 est maintenue à une température de 5°C par le passage d'eau glacée dans la double enveloppe.

* Cellule d'électrolyse

Il existe 2 configurations utilisables dans ce procédé : électrodes planes ou cylindriques. La cellule utilisée comprend :

- 10 - un système de serrage de l'empilement des différentes pièces qui constituent la cellule d'électrolyse
- 2 blocs usinés, en polypropylène, permettant de distribuer l'eau de part et d'autre de la membrane
- 1 paire de joints en EVA (Ethyl Vinyl Acetate) placés à l'arrière de chaque
15 électrode
- 1 paire de joints en PER (PolyEthylène Réticulé Haute Densité) placés à l'avant de chaque électrode, permettant de canaliser le parcours de l'eau en contact avec les électrodes
- 1 paire de séparateurs, ajourés, maintenant l'espacement entre l'électrode et la
20 membrane
- 2 électrodes : 1 anode, alimentée par le pôle positif et 1 cathode alimentée par le pôle négatif du générateur de courant continu
- 1 membrane perméable aux cations mais pas aux gaz, permettant de séparer le compartiment anodique du compartiment cathodique

25 Un schéma de la cellule d'électrolyse est donné en figure 3.

La cathode est en inox 304, ce qui permet de diminuer le coût du procédé versus une cathode en titane massif avec un revêtement de platine. L'économie générée est d'environ 20% du coût complet de l'installation. Ce choix autorise par ailleurs le mélange des flux tel que décrit plus haut car l'électrode inox est alimentaire contrairement à d'autres électrodes.

30 L'anode est également une électrode alimentaire. On utilise une anode en titane recouverte d'une fine couche de platine. Parmi les fabricants, on compte la société De Nora. Le titane

offre d'excellentes propriétés de conduction et le platine constitue une couche protectrice contre le phénomène d'oxydation. De part sa nature, l'anode requiert certaines précautions d'usage. La densité de courant étant un des facteurs limitants, il est possible de travailler à des densités de 30 mA/cm² mais déconseillé de dépasser 100 mA/cm² sous peine d'accélérer la dégradation des électrodes.

La membrane utilisée se caractérise par son étanchéité aux gaz, ce qui permet de confiner l'O₂ coté anode et l'H₂ coté cathode.

Comme exemple de membranes commerciales pouvant être utilisées, on peut notamment citer les membranes :

- 10 - Nafion[®] : fabriquée par DuPont de Nemours, très utilisée pour la technologie de la pile à combustible. Cette membrane cationique est un copolymère tetrafluorethylène sulfonée, qui possède quant elle est humide une très bonne capacité de transport des protons (H⁺) tout en ayant une bonne résistance mécanique et thermique. Sa résistance à l'oxydation et à certains produits chimiques (chlore, soude) est supérieure aux membranes
- 15 Neosepta[®]. Son coût est en revanche nettement supérieur à ces dernières.
- Neosepta[®] : les membranes CMX sont des membranes cationiques, symétriques, non orientées, à base de co-polymère styrène – divinylbenzène. Elles sont produites par Tokuyama.
- CMX-Sb : membrane dense, standard, cationique non sélective, alimentaire,
- 20 beaucoup moins chère que la membrane Nafion[®]. C'est cette membrane qui a été retenue au terme de nos essais.
- CMX-S : membrane sélective des cations monovalents. Agrée alimentaire en Europe, agrément FDA en cours

De manière générale, les conditions de nettoyage sont limitées par la résistance de l'anode et de la membrane. Les préparations applicables sont :

- HCl ou HNO₃ 0,1 N
- NaOH 0,1 N à 40°C maximum
- Tensio-actifs non ioniques, type Ultrasil[®] 130 d'Ecolab
- Oxonia[®] active, mélange d'eau oxygénée et d'acide peracétique : 1% à 30/40°C
- 30 Mesures de potentiels d'oxydo-réduction :

Eau déminéralisée et eau reminéralisée : + 180 mV (électrode Ag/AgCl) soit +390 mV avec électrode de référence à hydrogène

Eau enrichie à 100 mg/l d'O₂ par injection : + 180 mV (électrode Ag/AgCl), soit +390 mV avec électrode de référence à hydrogène

- 5 Eau enrichie à 100 mg/l d'O₂ par électrolyse : + 145 mV (électrode Ag/AgCl), soit +355 mV avec électrode de référence à hydrogène

Exemple 2 : Mesure de la stabilité de l'oxygène dissous

- 10 L'objectif de cet exemple est d'étudier la stabilité de l'oxygène dissous après ouverture de la bouteille. Il s'agit donc de caractériser la cinétique de dégazage de la boisson à l'ouverture de la bouteille.

Mode opératoire

- 15 Ce mode opératoire s'appuie sur une volonté de tester des produits représentatifs des conditions industrielles mises en œuvre lors de la production des boissons. Ainsi, chaque série d'échantillons est produite lors d'un même batch, parfaitement homogène, avec des caractéristiques packaging identiques : format et géométrie des bouteilles, matériau, bouchon, volume de l'espace de tête (i.e le volume de gaz situé au dessus de l'eau dans une bouteille fermée).

- 20 a. définition du produit : Les échantillons sont exclusivement composés d'eau potable, dont la composition minérale a été ajustée, et d'oxygène.
b. composition : L'eau de base utilisée pour réaliser les échantillons est de l'eau potable. Cette eau potable a été soumise au procédé d'électrolyse selon l'invention (cf. exemple 1) ou a été enrichie en oxygène par injection d'O₂ pur.

La composition finale de l'eau est donnée dans le tableau 2 suivant :

Na ⁺ (en mg/l)	SO ₄ ²⁻ (en mg/l)	PO ₄ ³⁻ (en mg/l)	O ₂ dissous (en mg/l)	
200	251	110	100	Valeur obtenue par électrolyse de l'eau
200	251	110	100	Valeur obtenue par injection d'O ₂ pur

25 Tableau 2

- c. contenant : Les packagings utilisés sont les mêmes que ceux d'une ligne industrielle (bouteille en verre de 750 ml et bouchon couronne associé). Ces conditions garantissent une perméabilité nulle de l'emballage tout au long de la durée de vie du produit, soit 9 mois.

Les bouteilles en verre sont nettoyées puis rincées à l'eau MilliQ avant d'être séchées. Ces bouteilles sont bouchées à l'aide de bouchons couronnes 26 mm. Les couronnes sont stérilisées préalablement par rayonnement Gamma. L'embouteillage des produits et le bouchage définitif sont effectués sous atmosphère contrôlée.

5 d. cinétique de désorption – principe

Une fois les échantillons réalisés, ils sont stockés 48h minimum à la température à laquelle le test est conduit, ce temps correspondant à la stabilisation en température et à l'équilibrage du gaz entre la phase liquide et l'espace de tête. La température du test a été délibérément fixée à 20°C pour se rapprocher des conditions réelles de consommation.

10 Trois premières bouteilles sont analysées afin de connaître la teneur en gaz dissous à l'équilibre avant ouverture. Les bouteilles sont ensuite toutes ouvertes simultanément, dans un environnement stable et maîtrisé. Elles restent ensuite ouvertes tout au long de l'expérimentation.

A $t=0$, puis à intervalles réguliers durant 23 jours, 2 bouteilles de chaque série étudiée sont
15 prélevées et analysées. Du fait de la méthode de mesure de l'O₂ dissous, il est nécessaire de reboucher chaque bouteille avec un bouchon neuf avant de procéder à son analyse. Cette phase de rebouchage n'intervient que quelques minutes avant l'analyse des bouteilles. Chaque analyse est destructive et a été faite en double. Dans toute la phase de stabilisation des bouteilles et de test, les conditions environnementales ont été standardisées
20 (température ambiante, vibrations).

e. matériels et méthodes

L'analyse de l'oxygène dissous s'effectue par mesure polarographique avec un dispositif de prélèvement par perçage de la bouteille.

La bouteille est percée et mise sous pression d'azote (4 bar) pour pousser le liquide vers la
25 chambre de mesure, à un débit de 60 ml/min. Le gaz vecteur est l'azote car il est très peu soluble dans l'eau et ne perturbe pas l'analyse.

Le capteur d'oxygène est composé de deux électrodes, une cathode en platine et une anode en argent, le tout dans un électrolyte alcalin (KCl) séparé du milieu de mesure par une membrane perméable aux gaz.

30 Une tension constante est appliquée entre les 2 électrodes, entraînant la réduction de l'oxygène présent dans le milieu. Le courant généré par la réaction d'oxydo-réduction est

proportionnel à la quantité d'oxygène présent dans le milieu et donc à la pression partielle d'oxygène.

Résultats

Les tests ont été menés sur 4 séries de bouteilles obtenues selon le procédé de l'invention et selon le procédé d'injection d'oxygène pur. Pour chaque procédé, les 4 séries correspondent à 4 valeurs distinctes d'oxygène dissous (40, 70, 100, >100 mg/l).

Ces résultats mettent en évidence une décroissance lente de la teneur en oxygène dissous (voir figures 4 et 5).

Légende de la figure 4 (échantillons obtenus par électrolyse de l'eau) et de la figure 5 (échantillons obtenus par injection d'oxygène pur) :

■ série 1 $\approx$ 40 ppm

$\triangle$ série 2 $\approx$ 70 ppm

◆ série 3 $\approx$ 100 ppm

$\times$ série 4 > 100 ppm

Le trait gras correspond à la concentration en O₂ à saturation normale (10 mg/l).

Ces figures montrent une désorption très lente de l'oxygène dissous (par électrolyse ou par injection) après ouverture des bouteilles. Le ré-équilibre complet avec l'atmosphère (10 mg/l) nécessite dans les deux cas 23 jours.

Pour les séries 3 et 4, dont la teneur initiale est de 100 mg/l, les pertes instantanées à l'ouverture sont comprises entre 5 et 10 mg/l, et restent inférieures à 10 mg/l y compris 3h après ouverture. Ces pertes sont de 20 mg/l après 24h.

Ainsi, dans le cadre d'une consommation normale des boissons, soit dans les 30 minutes après ouverture de la bouteille, la perte d'oxygène à considérer reste bien inférieure à 10% de la valeur initiale avant ouverture.

La désorption complète de l'oxygène sursaturant nécessite 23 jours.

Discussion

Sur une période de 3 heures après ouverture de la bouteille enrichie en oxygène, la teneur en O₂ dissous dans la boisson reste supérieure ou égale à 90% de la teneur initiale avant ouverture.

Cette excellente stabilité peut paraître surprenante au regard des lois physiques qui régissent les transferts gazeux entre un liquide et l'atmosphère qui le surplombe

(notamment Loi de Henry). Néanmoins, certains facteurs expliquent un tel comportement de la boisson.

Ces boissons enrichies en O_2 sont assimilables à une boisson gazeuse dont l'emballage, de part sa résistance mécanique, permet de conserver un état d'équilibre à une pression partielle d' O_2 supérieure à la pression atmosphérique.

L'ouverture de la bouteille génère un déséquilibre par perte de cette pression interne et retour à la pression atmosphérique. Ce déséquilibre se traduit par une perte progressive de l' O_2 dissous.

En revanche, la désorption de l'excès d' O_2 dissous est ralentie par :

- 10 ➤ la surface d'échange limitée entre le liquide et l'air qui le surplombe dans la bouteille
- la faible mobilité de l' O_2 dans le liquide vers la surface libre
- l'établissement d'une couche d'air enrichie d'oxygène au voisinage immédiat de la surface du liquide, augmentant localement la pression partielle d' O_2
- 15 Ces expérimentations mettent en évidence la similitude de comportement de l'oxygène entre les deux procédés d'enrichissement (électrolyse et injection).

Conclusions

Ces résultats montrent que dans le cadre d'une consommation normale de ces boissons, soit dans les 3 heures après ouverture de la bouteille, la perte d'oxygène à considérer reste inférieure à 10% de la valeur initiale avant ouverture. La désorption complète de l'oxygène sursaturant nécessite 23 jours.

Exemple 3 : Etude *in vitro* de la disponibilité et de l'utilisation de l'eau oxygénée dans et par les mitochondries.

25 - Le but de cette étude fut de 1) mettre en évidence le fait que l'oxygène ajouté dans l'eau par électrolyse (H_2O_2) est disponible et utilisable par la mitochondrie musculaire ; 2) de diminuer les concentrations en oxygène lors de la mesure de la respiration mitochondriale afin de se rapprocher des concentrations en O_2 que perçoit la mitochondrie *in vivo*.

2 solutions de respiration (R) préparées avec 2 eaux différentes ont été testées:

30 Solution R-A : Eau contrôle (concentration en O_2 : 10 mg/l)

Solution R-D : Eau enrichie en O₂ par électrolyse, mais à une concentration similaire à ce que l'on trouve dans l'eau contrôle (pO₂ atmosphérique), ie 10 mg/L.

Il n'est pas nécessaire de tester une eau enrichie en O₂ par injection, qui, à cette concentration de 10 mg/L, ne se différencie pas de l'eau contrôle.

5 Protocoles

La respiration des fibres

Cette technique nous permet d'étudier les propriétés de l'ensemble de la population des mitochondries *in situ*. Les fibres (entre 5 et 10 mg en poids frais) sont mises dans une chambre de respiration thermostatée (+22°C) contenant 3 ml de solution de Respiration enrichie en oxygène, et leur consommation d'oxygène est enregistrée en continu au moyen d'une électrode de Clark reliée à un ordinateur.

Protocole 1 :

- *Effet de la solution enrichie en oxygène sur la Vmax des fibres musculaires (10mg de fibres) :*

15 Les fibres sont introduites dans la chambre de respiration thermostatée (22°C), et leur consommation d'oxygène est mesurée soit dans la solution R-A, soit dans la solution R-D. Après 6 minutes d'enregistrement, un ajout d'ADP (2mM) est effectué et nous permet d'atteindre la vitesse de respiration maximale des fibres (Vmax). L'ACR (accepteur control ratio) est calculée en faisant le rapport entre la Vmax et la V₀. C'est un bon
20 indicateur de l'état fonctionnel des mitochondries et définit la stimulation de la respiration par l'accepteur (ADP) et permet d'évaluer le couplage entre les oxydations et les phosphorylations dans la solution enrichie en oxygène.

Nous laissons ensuite 1 heure les fibres consommer l'oxygène dans la solution R, puis nous récupérons les fibres afin de les sécher puis de les peser.

25 Une fois l'expérience finie, nous pouvons mesurer les cinétiques de Vmax en fonction de la concentration d'oxygène dans la cuve afin de mettre en évidence un possible effet « qualitatif » (augmentation de l'affinité de la mitochondrie pour l'oxygène) de la solution R-D sur la Vmax pour des concentrations d'oxygène élevée mais également peu élevée.

Protocole 2 :

30 - *Effet de la solution enrichie en oxygène sur le complexe IV de la chaîne respiratoire mitochondriale :*

Le complexe IV est l'accepteur final de l'oxygène dans la chaîne respiratoire de la mitochondrie. Le début de ce protocole est le même que lors du protocole 1, le changement se situe après la mesure de la $V_{\max}$, ou après avoir injecté de l'ADP, nous ajoutons un inhibiteur du complexe I, qui va inhiber la respiration mitochondriale, puis nous ajoutons

5 du succinate qui permet de mesurer la respiration mitochondriale en passant par le complexe II. L'étape suivante est l'injection dans la chambre d'un donneur d'électron directement au complexe IV (substrats TMPD-ascorbate) afin de stimuler la respiration mitochondriale à partir de la cytochrome oxydase (complexe IV, accepteur final de l'oxygène).

- 10 Les résultats correspondant à la respiration mitochondriale maximale (Volume V en $\mu\text{mol O}_2/\text{min/g}$ en poids sec) en fonction de la concentration d'oxygène (exprimée en μM d' O_2) en activant l'ensemble de la chaîne respiratoire ($n=6$) –A- ou en activant uniquement le complexe IV de la chaîne respiratoire mitochondriale ($n=6$) –B- sont reportés respectivement sur les figures 6A et 6B (valeurs $\pm\text{SEM}$, $*p<0,05$ vs solution R-A, $**p<0,01$ vs solution R-A). Sont reportés en blanc les résultats mesurés avec la solution R-A et en noir ceux mesurés avec la solution R-D.

Les figures 6A et 6B montrent clairement que les mitochondries musculaires sont capables d'utiliser l'ensemble de l'oxygène présent dans la solution R-D, ce qui répond à notre premier objectif.

- 20 - La figure 6 montre les vitesses de respiration mitochondriale en fonction de la décroissance de la concentration d'oxygène dans la chambre de respiration. La $V_{\max}$ correspond à la respiration mitochondriale maximale stimulée par ajout d'ADP pour la concentration d' O_2 la plus élevée.
- La figure 6A ne montre pas de différence significative entre les 2 solutions. Ceci montre
- 25 que lorsque nous faisons fonctionner l'ensemble de la chaîne respiratoire, les cinétiques de respiration mitochondriale ne sont pas significativement différentes entre les deux solutions.
- De façon très intéressante la figure 6B montre que lorsque nous isolons le complexe IV (accepteur final de l'oxygène) de la chaîne respiratoire, et lorsque la concentration
- 30 d'oxygène devient limitante (à partir de $140\mu\text{M}$ d'oxygène), la vitesse de respiration mitochondriale devient supérieure avec la solution R-D en comparaison de la solution R-A,

cette différence devenant significative à partir d'une concentration en oxygène égale à 100µM d'O₂ dans la chambre de respiration (la solution R-D permet une augmentation de +27% à 100µM d'O₂ et jusqu'à + 65% à 40µM d'O₂ en comparaison à la solution R-A).

En conclusion l'eau enrichie en oxygène obtenue par le procédé selon l'invention, est parfaitement disponible pour la mitochondrie. De façon intéressante, lorsque l'oxygène de la solution devient le facteur limitant le fonctionnement de la mitochondrie, les vitesses de respiration mitochondriale, mesurée lorsque seul l'accepteur final de l'oxygène fonctionne (complexe IV), sont supérieures avec l'eau selon l'invention, c'est à dire l'eau enrichie en oxygène par électrolyse, par rapport à l'eau contrôle. Ce résultat suggère que l'oxygène dissous sous cette forme est plus disponible pour la mitochondrie, ce qui lui permet de maintenir une vitesse de consommation d'oxygène supérieure et donc une production d'énergie sous forme d'ATP supérieure lorsque la concentration d'oxygène du milieu est limitante.

15 Exemple 4 : Etude *in vivo* chez le porc

L'étude a été réalisée chez le porc de petite taille (Large White) : 8 dans le groupe oxygène par électrolyse (Elect), 6 dans le groupe de référence sans oxygène ajouté (Réf) et 6 dans le groupe oxygène par injection (Inj).

Le groupe Elect a consommé de l'eau soumise au procédé d'électrolyse selon l'invention (cf. exemple 1). Le groupe Inj a consommé de l'eau enrichie en oxygène par injection d'O₂ pur.

La composition finale des trois eaux est donnée dans le tableau 3 suivant :

Groupe	Na ⁺ (en mg/l)	SO ₄ ²⁻ (en mg/l)	PO ₄ ³⁻ (en mg/l)	O ₂ dissous (en mg/l)	
Réf	200	251	110	10	Valeur d'O ₂ dans un liquide à l'équilibre avec l'atmosphère
Elect	200	251	110	100	Valeur obtenue par électrolyse de l'eau
Inj	200	251	110	100	Valeur obtenue par injection d'O ₂ pur

Tableau 3

Un volume d'eau de 10 ml·kg⁻¹ a été administré. Après le T0 de la fin d'administration intra-gastrique, les prélèvements ont été effectués à : 2½, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 75, 90, 105 et 120^{ème} minutes. Une analyse de variance à deux dimensions, sur mesures répétées et un test à posteriori de Tuckey ont été effectués sur les mesures réalisées aux : 5^{ème}, 10^{ème}, 15^{ème}, 30^{ème}, 60^{ème} et 90^{ème} minutes après l'administration intra-gastrique.

Evolution des différences artério-veineuses

Les différences artério-veineuses exprimées en valeurs relatives sont significativement plus basses à la 15^{ème} minute dans le groupe Electrolyse par rapport au groupe Référence (Figure 7, Tableau 4), une tendance est observée autour de ce point pour les mesures réalisées aux 10^{ème} et 30^{ème} minutes. Une différence significative est également observée à la 90^{ème} minute entre les eaux enrichies en O₂ et la référence (Figure 7, Tableau 4).

	Valeurs relatives de DavO2 ml O ₂ ·100 ml ⁻¹ (moyenne ± ET)			Effets simples de « groupes » Valeur de p	Test de Tuckey « groupes » Significativité		
	Electrolyse	Référence	Injection		E vs. R	E vs. I	R vs. I
5 min.	-0,94±1,32	-0,03±1,05	-0,41±0,93	0,350	NS	NS	NS
10 min.	-1,12±1,37	0,31±1,33	-0,72±0,32	0,071	NS	NS	NS
15 min.	-1,32±1,65	0,73±0,94 *	-0,71±0,35	0,05	p=0,05	NS	NS
30 min.	-0,98±1,48	0,41±1,00	-0,51±0,55	0,085	NS	NS	NS
60 min.	-0,13±2,33	0,44±0,77	-0,26±1,14	0,504	NS	NS	NS
90 min.	-0,83±1,81	1,75±3,10 ** §	-0,17±0,87	>0,001	p=0,01	NS	p=0,05

Tableau 4. Evolution de la différence artério-veineuse (DavO2) en oxygène dans les trois groupes, valeurs relatives et analyse statistique.

E vs. R = électrolyse versus référence ; E vs. I = électrolyse versus injection ; R vs. I =

référence versus injection

* différence significative p<0,05 entre les groupes Référence et Electrolyse

** différence significative p<0,01 entre les groupes Référence et Electrolyse

§ différence significative p<0,05 entre les groupes Référence et Injection

Légende de la Figure 7 : Evolution de la différence artério-veineuse en oxygène (DavO2) dans les trois groupes. Les résultats sont exprimés en valeurs relatives par rapport à la référence de base. Une différence significative est observée à la 15^{ème} (p<0,05) et la 90^{ème} (p<0,01) minute entre le groupe Electrolyse et Référence ainsi qu'à la 90^{ème} (p<0,05) minute entre le groupe Injection et Référence.

Pression partielle tissulaire en oxygène mesurée au niveau de la peau

Une différence significative est observée entre l'électrolyse et la référence. Dès la 10^{ème} minute, une augmentation significative de la TC PO2 est observée dans le groupe Electrolyse vis-à-vis du groupe de référence (Figure 8, Tableau 5). Cette différence est significative, ou présente une forte tendance (point de la 15^{ème} minute, p=0,08), entre la 10^{ème} et la 90^{ème} minute. Dans le groupe Référence la TC PO2 diminue régulièrement tout au long de la période d'étude, ce phénomène est également observé avec les deux

autres eaux, plus particulièrement à partir de la 90^{ème} minute. Malgré le soin apporté à la stabilité métabolique et hémodynamique des animaux, il est probable que les répercussions de l'anesthésie interfèrent sur les mesures effectuées au-delà de cette période.

	Valeurs relatives de TC PO ₂ mmHg (moyenne ± ET)			Effets simples de « groupes » Valeur de p	Test de Tuckey « groupes » Significativité		
	Electrolyse	Référence	Injection		E vs. R	E vs. I	R vs. I
5 min.	5,64±5,22	-1,42±1,65	2,33±3,32	0,144	NS	NS	NS
10 min.	5,50±5,25	-5,05±4,72 *	1,20±4,92	0,014	p=0,05	NS	NS
15 min.	3,93±5,58	-4,08±3,05	0,60±5,77	0,082	NS	NS	NS
30 min.	4,36±13,08	-8,40±11,57 *	0,80±10,43	0,001	p=0,05	NS	NS
60 min.	3,21±8,05	-11,2±8,56 **	-2,80±9,93	> 0,001	p=0,01	NS	NS
90 min.	-1,36±11,24	-16,40±10,74 ** §	-3,60±9,31	> 0,001	p=0,01	NS	p=0,05

Tableau 5. Evolution de la pression partielle trans-cutanée en oxygène (TC PO₂) dans les trois groupes, valeurs relatives et analyse statistique.

E vs. R = électrolyse versus référence ; E vs. I = électrolyse versus injection ; R vs. I = référence versus injection

* différence significative p<0,05 entre les groupes Référence et Electrolyse

** différence significative p<0,01 entre les groupes Référence et Electrolyse

§ différence significative p<0,05 entre les groupes Référence et Injection

Légende de la Figure 8 : Evolution de la mesure de la pression partielle trans-cutanée en oxygène (TC PO₂) dans les trois groupes. Les données relatives sont exprimées par rapport à la mesure de base. Le capteur chauffé à 45°C est placé au niveau du quadriceps sur lequel n'est pas posé l'artério-cathéter. Une différence significative est observée entre le groupe Electrolyse et Référence de la 10^{ème} minute à la 90^{ème} minute excepté pour le point de la 15^{ème} minute où seulement une tendance est observée (p=0,082). La différence est significative à la 90^{ème} minute entre le groupe Injection et référence.

Variation du compartiment plasmatique

Les variations des volumes dans le compartiment plasmatique ont été déterminées à partir des variations relatives du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite ainsi que par la mesure des osmolarités. Les fluctuations sont exprimées par rapport au temps zéro de l'administration (Figure 9), il existe une différence significative entre le processus d'électrolyse et les deux autres situations expérimentales après 15 et 30 minutes au niveau des variations relatives de l'osmolarité (Tableau 6).

	Electrolyse	Référence (n=3)	Injection
5 min	-5,5±4,9	-0,2±2,9	-2,2±5,1
15 min	-9,5±14,8	-1,8±2,4 *	-1,4±1,7 *
30 min	-10,0±11,3	-0,2±3,0 *	-3,0±5,3
60 min	-4,5±13,4	-3,3±5,0	-0,7±1,2
120 min	-7,5±9,2	-0,5±3,5	-0,3±4,5 *

Tableau 6. Variations relatives de l'osmolarité plasmatique ($\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$) dans les 3 groupes.

* différence significative $p<0,05$ par rapport au groupe électrolyse

Légende de la Figure 9 : Variations relatives du volume plasmatique dans les trois groupes (électrolyse –noir-, référence –blanc- et injection-gris-). Ces variations sont déterminées d'une part en étudiant les modifications relatives du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite (figure 9, en pourcentage), d'autre part à partir des osmolarités (figure 9B, en $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$) calculées sur les échantillons sanguins prélevés à la 5^{ème}, 15^{ème}, 30^{ème}, 60^{ème} et 120^{ème} minutes. Une modification significative (* $p<0,05$) est observée au niveau des osmolarités entre le groupe Electrolyse (n=3) et les deux autres groupes aux 15^{ème} et 30^{ème} minutes.

Conclusions

Après administration intra gastrique de l'eau enrichie en O_2 , sur les principaux facteurs étudiés, une différence significative est observée entre le processus d'électrolyse et la référence, pour deux paramètres: la mesure de la pression partielle en O_2 mesurée au niveau de la peau (TC PO_2) (Tableau 5, Figure 8) et la différence artérioveineuse en oxygène (DavO_2) (Tableau 4, Figure 7). Dans l'analyse des trois eaux, l'eau enrichie en O_2 par injection se positionne entre la référence et l'électrolyse. Cependant, dans les 90 premières minutes après ingestion, cette eau enrichie en O_2 par injection, ne présente pas de différence significative de TC PO_2 et DavO_2 en comparaison du groupe de référence.

Très rapidement après l'ingestion, pour les deux eaux enrichies en O_2 , est observée une hémodilution. Cette observation est confirmée au niveau de plusieurs paramètres indépendants : les variations des taux d'hémoglobine et d'hématocrite utilisées pour le calcul des variations relatives du volume plasmatique ainsi que les modifications de l'osmolarité plasmatique (Figure 9). Il semble que cet effet soit favorisé par l' O_2 dans l'eau indépendamment du procédé d'oxygénation (électrolyse, injection). Cependant, cet effet

semble quantitativement plus important avec l'eau enrichie en O_2 obtenue par électrolyse en comparaison de l'eau enrichie en O_2 par injection.

Revendications

1. Procédé d'enrichissement d'une eau en oxygène par voie électrolytique comprenant les étapes successives suivantes:

- 5 a) électrolyse d'une eau exempte d'ions Cl^- et Br^- , dans une cellule d'électrolyse dans laquelle l'anode et la cathode sont séparées par une membrane perméable aux charges électriques mais imperméable aux gaz ;
- b) récupération de l'eau enrichie en oxygène issue du compartiment anodique de la cellule d'électrolyse.

10

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend une étape préalable (a1) de traitement d'une eau par osmose inverse de façon à ce que le perméat soit exempt d'ions Cl^- et Br^- puis une étape préalable (a2), subséquente à l'étape (a1), de reminéralisation du perméat obtenu suite à l'étape (a1) et en ce que l'étape a) est réalisée

15 sur le perméat reminéralisé.

3. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que l'étape (a2) de reminéralisation comprend l'ajout de sels alimentaires choisis dans le groupe constitué par NaHCO_3 , Na_2SO_4 , Na_3PO_4 , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , KHCO_3 , K_3PO_4 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , K_2SO_4 ,

20 MgSO_4 , CaSO_4 , $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaHPO_4 , $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$.

4. Procédé selon les revendications 2 ou 3, caractérisé en ce qu'il comprend une étape supplémentaire (c) de réinjection de l'eau issue du compartiment cathodique de la cellule d'électrolyse, exempte d'hydrogène, dans l'eau enrichie en oxygène obtenue à l'étape (b).

25

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend une étape supplémentaire (d) de formulation de l'eau par ajout de divers ingrédients constitutifs d'une eau ou d'une boisson, en particulier par réinjection du rétentat de l'osmose inverse obtenu à l'étape (a1) dans l'eau enrichie en oxygène obtenue à

30 l'étape (b) ou (c) et/ou par ajout d'ingrédients compatibles avec l' O_2 choisis dans le groupe constitué par des sels minéraux et organiques, y compris les formes chlorures, des sucres,

des édulcorants, des arômes, des acides, des conservateurs, des vitamines, des jus, des fibres, des protéines et des extraits végétaux.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la
5 cathode de la cellule d'électrolyse est une cathode en inox.

7. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la membrane est une membrane cationique.

10 8. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend une étape supplémentaire (a3), préalable à l'étape (a) d'électrolyse et le cas échéant subséquente à l'étape (a2), de dégazage de l'eau.

9. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que
15 l'eau obtenue à l'étape (b), (c) et/ou (d) contient au moins 100 mg/l d'oxygène dissous

10. Eau ou boisson enrichie en oxygène susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle permet d'augmenter l'apport d'O₂ aux tissus et organes.

20

11. Eau ou boisson enrichie en oxygène susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle permet d'augmenter l'absorption et/ou la rétention de l'eau par l'organisme et permet de faciliter/améliorer l'hydratation et/ou de prévenir la déshydratation.

25

12. Eau ou boisson enrichie en oxygène susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle permet d'augmenter les vitesses de respiration mitochondriale et donc la production d'énergie sous forme d'ATP par la mitochondrie.

30

13. Boisson énergisante contenant une eau ou une boisson selon l'une quelconque des revendications 10 à 12.
- 5 14. Utilisation d'une eau ou d'une boisson selon l'une quelconque des revendications 10 à 13 en tant qu'apport énergétique, apport dynamisant et/ou aide à la récupération et à la remise en forme, pour améliorer les performances physiques, et/ou prolonger l'effort physique.
- 10 15. Utilisation d'une eau ou d'une boisson selon l'une quelconque des revendications 10 à 13 pour la préparation d'une boisson destinée à palier au manque d'O₂ lorsque l'apport d'O₂ devient limitant comme c'est le cas lors d'exercice intense ou chez les patients présentant des pathologies artérielles.

1/6

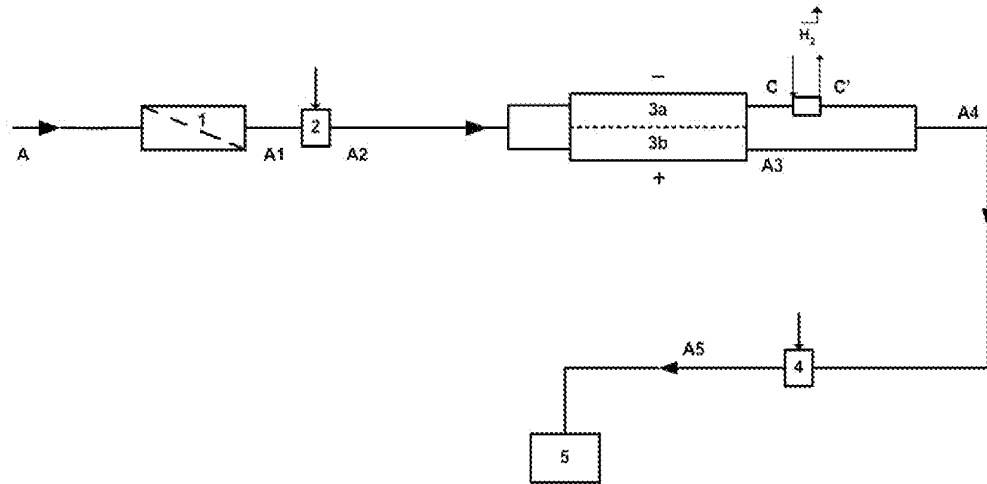


FIG. 1

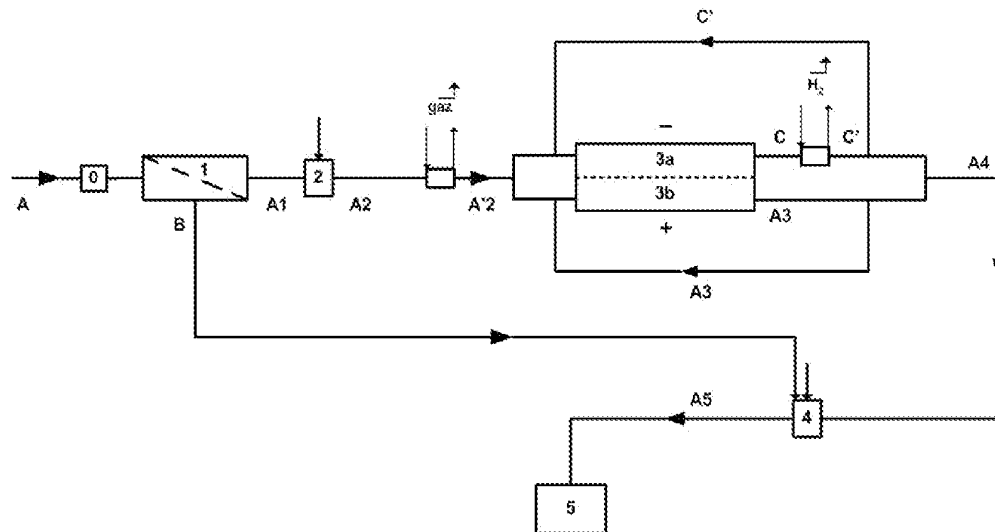


FIG. 2

2/6

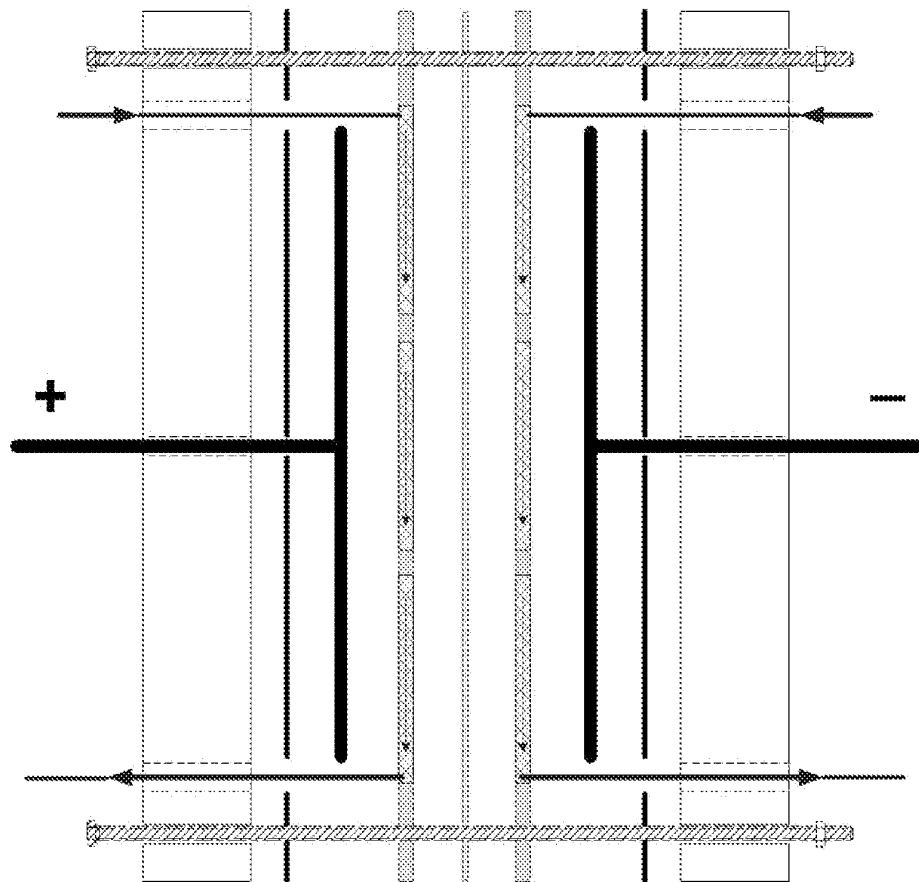


FIG. 3

3/6

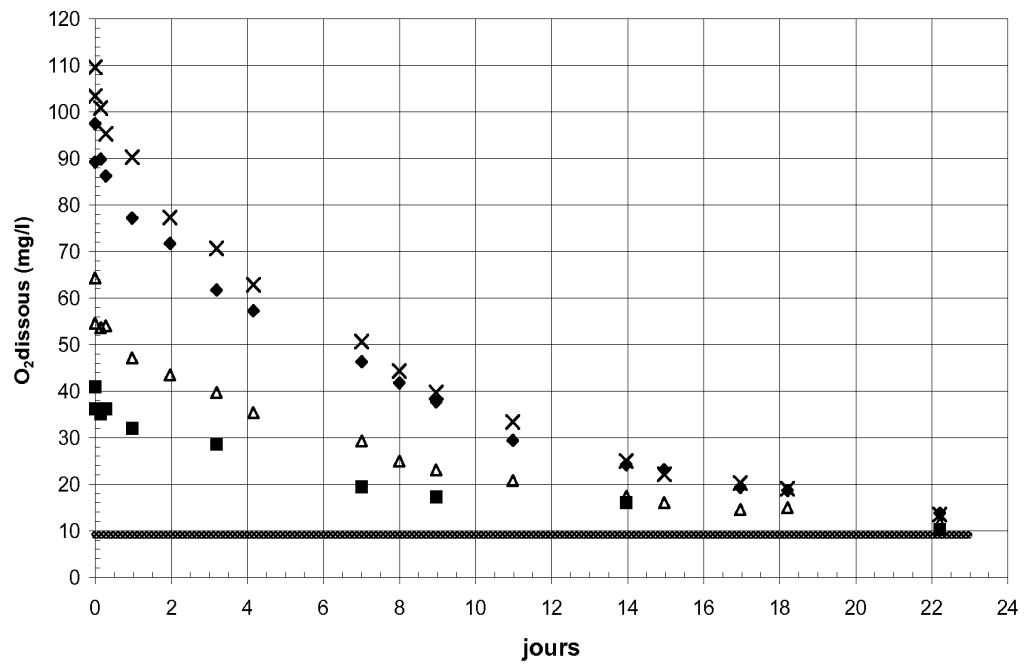


FIG. 4

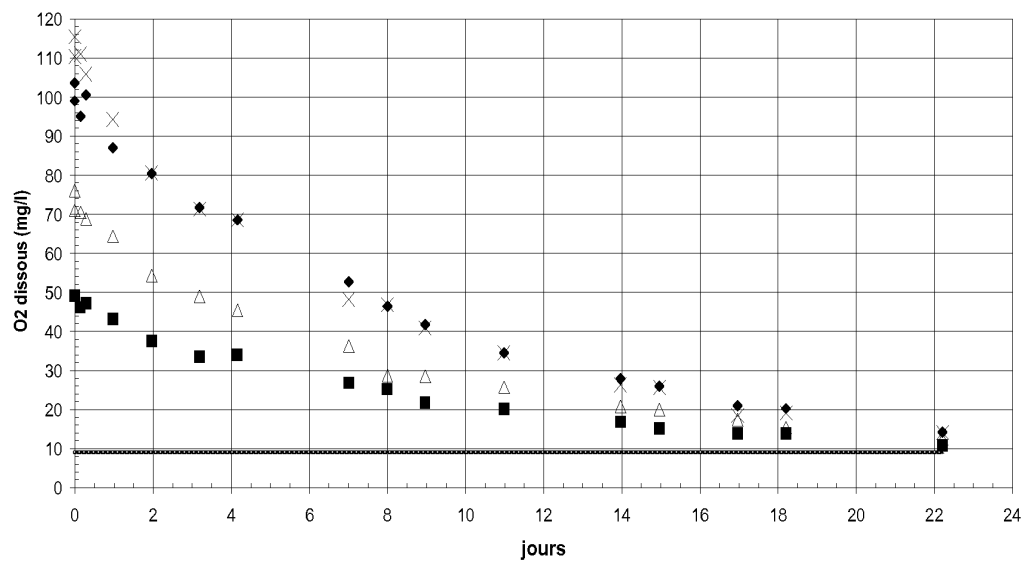


FIG. 5

4/6

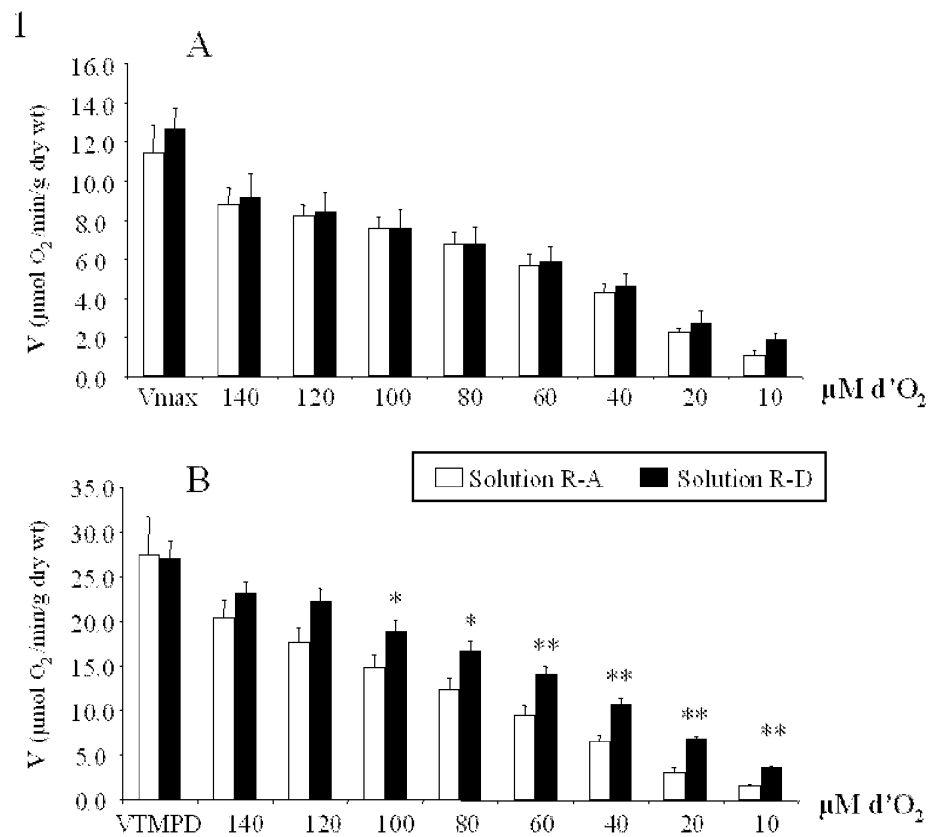


FIG. 6

5/6

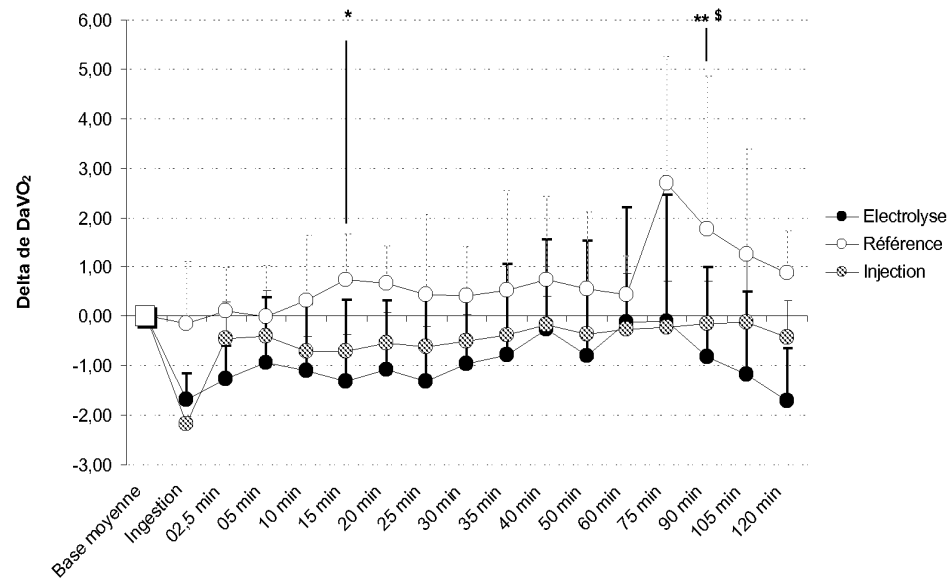


FIG. 7

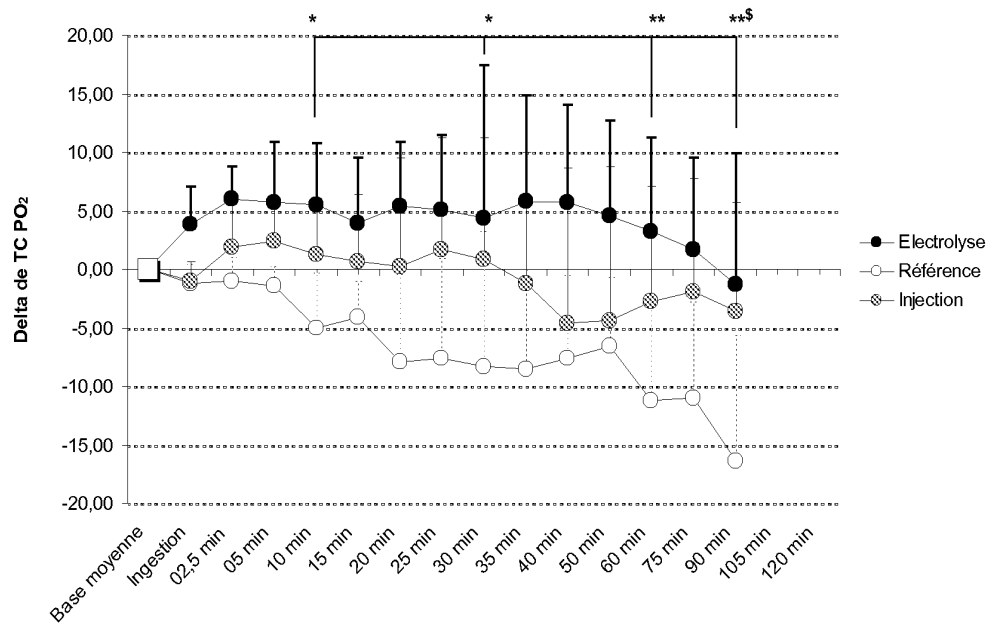


FIG. 8

6/6

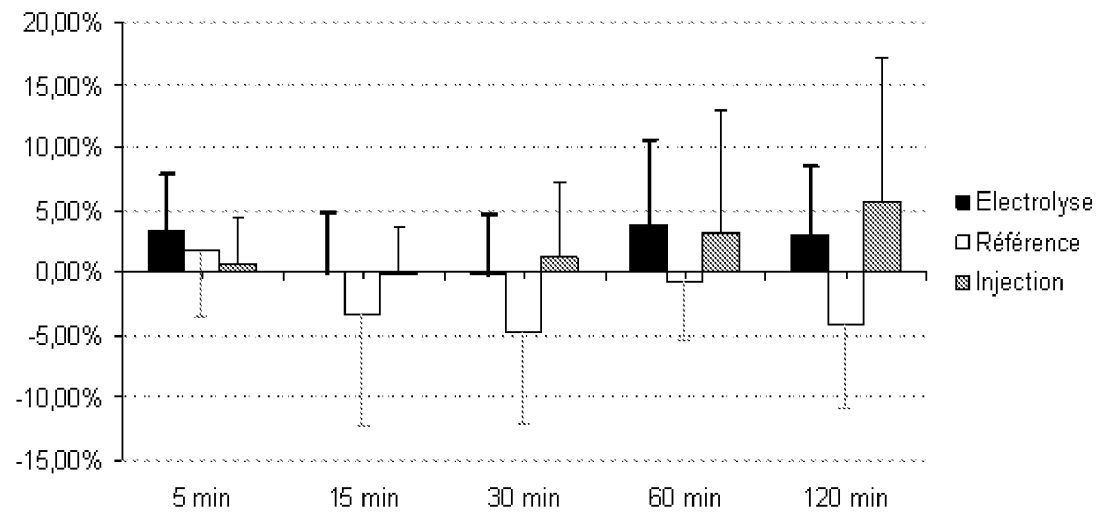


FIG. 9A

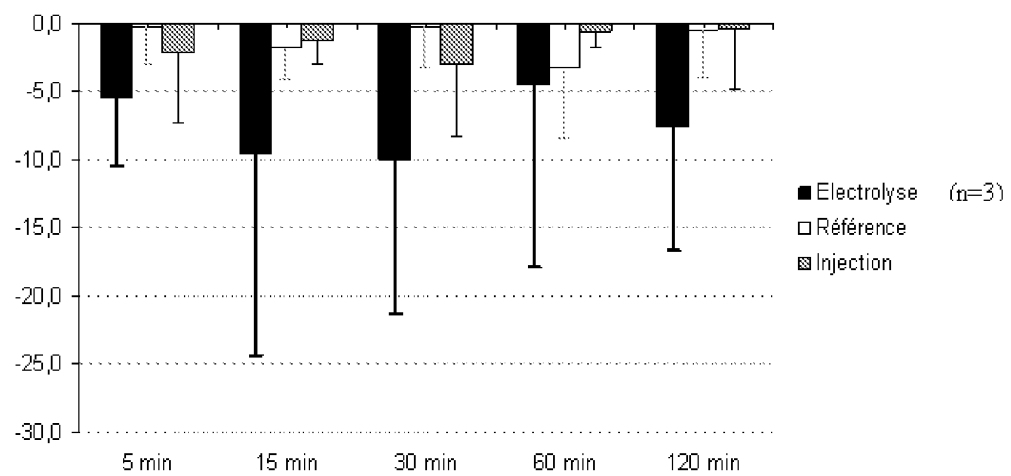


FIG. 9B



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 704935
FR 0760310

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	WO 02/085794 A (ADVANCED H2O INC [US]) 31 octobre 2002 (2002-10-31)	1-5, 7-13,15	C02F1/461 C02F1/44 C02F1/68 A23L2/70 A23L2/52 A23L2/38
Y	* page 5, ligne 17 - ligne 22 * * page 6, ligne 12 - page 7, ligne 19 * * figure 1 *	6	
X	EP 1 826 183 A (SATO KIMIHIRO [US]) 29 août 2007 (2007-08-29)	1-5, 7-13,15	
Y	* alinéas [0004], [0007] - [0009], [0011], [0012], [0018], [0029]; revendication 11 * * colonne 6, ligne 22 - ligne 26 * * colonne 6, ligne 50 - ligne 58 *	6	
X	EP 1 512 670 A (NIHON TRIM CO LTD [JP]) 9 mars 2005 (2005-03-09)	1-5, 7-13,15	
Y	* alinéas [0037], [0038]; figures 1,2 *	6	
X	EP 1 293 481 A (COHERENT TECHNOLOGY CO LTD [JP] OCULUS INNOVATIVE SCIENCES INC [US]) 19 mars 2003 (2003-03-19)	1-5, 7-13,15	
Y	* alinéas [0002], [0006], [0007], [0060]; revendication 10 *	6	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) C02F B01D A23L A61L
X	GB 2 294 590 A (NIPPON ELECTRIC CO [JP]; ORGANO CORP [JP]) 1 mai 1996 (1996-05-01)	1-5, 7-13,15	
Y	* page 25, dernier alinéa - page 26, alinéa 1; figures 1,2 * * page 26, dernier alinéa - page 27, alinéa 3 *	6	
X	WO 03/042112 A (RADICAL WATERS IP PTY LTD [ZA]; RAWHANI SUHA [ZA]; VILJOEN JACOBUS JOH) 22 mai 2003 (2003-05-22)	1-5, 7-13,15	
Y	* page 2, ligne 3 - ligne 19 * * page 3, ligne 7 - ligne 10 * * page 5, ligne 17 - ligne 21; revendications 1,10 *	6	
----- -/--			
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
13 août 2008		Beckmann, Oliver	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 704935
FR 0760310

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	JP 07 303885 A (OKAZAKI TATSUO) 21 novembre 1995 (1995-11-21)	1-5, 7-13,15	
Y	* abrégé; figure 1 *	6	
Y	US 5 615 764 A (SATOY YUKIMASA [JP]) 1 avril 1997 (1997-04-01) * colonne 3, ligne 43 - ligne 58 *	6	
X	DE 201 01 692 U1 (ADELHOLZENER ALPENQUELLEN GMBH [DE]) 12 juillet 2001 (2001-07-12) * page 2, alinéa 4 *	10-13,15	
X	JP 2006 043681 A (SEIWA PRO KK) 16 février 2006 (2006-02-16) * abrégé *	10-13	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
13 août 2008		Beckmann, Oliver	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		 & : membre de la même famille, document correspondant	

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0760310 FA 704935**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **13-08-2008**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 02085794	A	31-10-2002	US 2002158018 A1	31-10-2002
EP 1826183	A	29-08-2007	AU 2007200803 A1	13-09-2007
			CA 2579517 A1	24-08-2007
			US 2007261950 A1	15-11-2007
EP 1512670	A	09-03-2005	AUCUN	
EP 1293481	A	19-03-2003	AT 354543 T	15-03-2007
			DE 1293481 T1	18-09-2003
			DE 60218256 T2	31-10-2007
			ES 2277979 T3	01-08-2007
			JP 2003080258 A	18-03-2003
			KR 20030023553 A	19-03-2003
			US 2003056805 A1	27-03-2003
			US 2006272954 A1	07-12-2006
GB 2294590	A	01-05-1996	CN 1130689 A	11-09-1996
			DE 19540471 A1	02-05-1996
			JP 8126873 A	21-05-1996
			US 5635053 A	03-06-1997
WO 03042112	A	22-05-2003	AUCUN	
JP 7303885	A	21-11-1995	AUCUN	
US 5615764	A	01-04-1997	JP 2857334 B2	17-02-1999
			JP 8112593 A	07-05-1996
DE 20101692	U1	12-07-2001	DE 10045022 A1	25-04-2002
			WO 0221942 A1	21-03-2002
			EP 1322186 A1	02-07-2003
			US 2004009207 A1	15-01-2004
JP 2006043681	A	16-02-2006	AUCUN	

RECHERCHE INCOMPLÈTE
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE C

Numéro de la demande

FA 704935
FR 0760310

Revendications ayant fait l'objet de recherches complètes:
1-13,15

Revendications n'ayant pas fait l'objet de recherches:
14

Raison pour la limitation de la recherche (invention(s) non
brevetable(s)):

La revendication a trait à une utilisation de traitement thérapeutique du
corps humain ou animal.